



ZAKŁAD AKWAKULTURY

OPIS

pracy doktorskiej przedstawionej w formie spójnych tematycznie publikacji naukowych
pod wspólnym tytułem:

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

mgr inż. Maciej Roman Rożyński

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem
prof. dr. hab. Zdzisława Zakęsia

Promotor pomocniczy
dr hab. Rafał Kamiński

Niniejsza rozprawa doktorska dokumentuje wyniki badań opracowanych i omówionych w ramach czterech oryginalnych, spójnych tematycznie prac naukowych, opublikowanych w czasopismach z listy Journal Citation Report, posiadających Impact Factor (praca 1, praca 2, praca 3) oraz Archives of Polish Fisheries (obecnie Fisheries & Aquatic Life) (praca 4):

- Praca 1: **Rożyński M.**, Ziomek E., Demska-Zakęś K., Kowalska A., Zakęś Z. 2016 – Propiscin – a safe anaesthetic for pikeperch (*Sander lucioperca* L.) – Acta Veterinaria Hungarica 64: 415-424. doi: 10.1556/004.2016.039 (*Impact factor* – 0,814; liczba punktów MNiSW – 25);
- Praca 2: **Rożyński M.**, Demska-Zakęś K., Sikora A., Zakęś Z. 2018 – Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.) – Fish Physiology and Biochemistry 44: 927-937. doi: 10.1007/s10695-018-0482-4 (*Impact factor* – 1,729; liczba punktów MNiSW – 20);
- Praca 3: **Rożyński M.**, Kapusta A., Demska-Zakęś K., Hopko M., Sikora A., Zakęś Z. 2017 – The effects of surgically implanted dummy tags on the survival, growth performance, and physiology of pikeperch (*Sander lucioperca*) – Fish Physiology and Biochemistry 43: 999-1010. doi: 10.1007/s10695-017-0347-2 (*Impact factor* – 1,735; liczba punktów MNiSW – 20);
- Praca 4: **Rożyński M.**, Kapusta A., Demska-Zakęś K., Ziomek E., Szczerbowski A., Stawecki K., Zakęś Z. 2017 – Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*) – Archives of Polish Fisheries 25: 89-101. doi: 10.1515/aopf-2017-0009 (liczba punktów MNiSW – 12).

Spis treści

Streszczenie	5
English summary	8
Wstęp	11
Cel pracy	16
Materiał i metody	17
Materiał badawczy, jego pochodzenie i warunki wstępnego podchowu.....	17
Procedury doświadczalne	18
Analiza statystyczna	22
Wyniki	24
Wskaźniki hematologiczne.....	24
Wskaźniki biochemiczne.....	28
Wskaźniki efektów implantacji nadajników TT	32
Wskaźniki kondycyjne	36
Dyskusja	40
Wpływ Propiscinu na stan zdrowotny i fizjologiczny	40
Wpływ implantacji TT na stan zdrowotny, fizjologiczny i kondycyjny	43
Wnioski	48
Literatura.....	49
Załączniki.....	56

Streszczenie

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, określany 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 kąpieli (2 i 10 min u sandacza oraz 3 i 10 min u okonia). Krew pobierano bezpośrednio po zakończeniu kąpieli 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 podchowrywano 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 kąpieli 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 czerwonekrwinkowych, 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 kąpieli 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 kąpieli 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 wariantie 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 wariancie II (zamykanie ran klejem) dotyczyło to tylko jednego parametru (fosfatazy zasadowej). Z kolei u okonia różnice wystąpiły tylko w dwóch parametrach w wariancie 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 wariancie I tylko jedna ryba straciła nadajnik TT (retencja 94%), natomiast w wariancie II nie odnotowano strat TT (retencja 100%). U okonia w wariancie I retencja nadajników TT wyniosła 66,7%, a w wariancie 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.

Wstęp

W ostatnim dwudziestoleciu obserwujemy systematyczny i dynamiczny rozwój sektora akwakultury (FAO 2018). Powszechnie implementuje się różnorodne techniki produkcji nowych dla tego sektora organizmów wodnych, w tym ryb. Szacuje się, że w ostatnich kilkunastu latach do akwakultury wprowadzono ok. 100 gatunków organizmów wodnych (Bregnballe 2015). W Europie w tym czasie szczególną uwagę producentów i hodowców ryb zwróciły dwa gatunki z rodziny okoniowatych, zaliczane do grupy tzw. gatunków perspektywicznych, tj. sandacz europejski (*Sander lucioperca*) i okień euroazjatycki (*Perca fluviatilis*). Opracowane zostały kompleksowe biotechniki ich kontrolowanego rozrodu oraz podchowu kolejnych stadiów rozwojowych: od larw, poprzez stadia juwenilne (materiał obsadowy i zarybieniowy), po tucz w systemach hodowlanych o różnym stopniu intensyfikacji produkcji (Toner i Rougeot 2008; Kestemont i in. 2015; Policar i in. 2015; Zakęś 2017). W kontekście intensyfikacji produkcji sandacza i okonia najbardziej obiecującą wydaje się być technika produkcji w systemach recyrkulacyjnych (RAS) (Dalsgaard i in. 2013; Zakęś 2017). Obecnie w Europie istnieją już farmy tych ryb wyposażone w systemy RAS, prowadzące produkcję w zamkniętym cyklu hodowlanym, posiadające własne stada tarłowe sandacza i okonia (Dalsgaard i in. 2013). Materiał wyprodukowany w obiektach RAS przeznaczany jest nie tylko do obsadzania basenów w farmach prowadzących tucz tych ryb, ale wykorzystywany jest również do zarybień wód otwartych (Steenfeldt i in. 2015).

Prowadzenie intensywnej produkcji ryb w RAS wymaga stosowania licznych manipulacji rybami (m.in. pomiary kontrolne, sortowanie, transport, znakowanie, obsadzanie basenów, tarło kontrolowane). Zabiegi te indukują zjawisko stresu u ryb, co z kolei może negatywnie wpływać na ich status zdrowotny i efekty hodowlarzno-ekonomiczne (Falahatkar i Barton 2007; Sopinka i in. 2016). Jednym ze sposobów pozwalających zniwelować zjawisko stresu u ryb podczas manipulacji hodowlanych jest stosownie anestetyków. Indukcja znieczulenia ogólnego ryb pozwala zahamować lub nawet zablokować reakcję stresową organizmu (Sneddon 2012). Po wprowadzeniu ryb w stan uśpienia zablokowaniu ulega odbieranie bodźców ze środowiska zewnętrznego, ponadto zmniejsza się napięcie ciała ryb, co pozwala zapobiec negatywnym skutkom manipulacji, takich jak uszkodzenia mechaniczne ciała czy śmiertelność pomanipulacyjna (np. Kazuń i Siwicki 2012). Kolejną ważną zaletą stosowania anestetyków jest znaczące skrócenie czasu manipulacji, co ogranicza czas reakcji

stresowej organizmu. U ryb okoniowatych anestetyki stosuje się m.in. podczas pozyskiwania produktów płciowych (Zakęś i in. 2013; Alavi i in. 2015), a nawet podczas procedury oddzielania larw z wypełnionym pęcherzem pławnym od osobników z pęcherzem niewypełnionym (Kestemont i in. 2015; Zakęś 2017).

Do tej pory do wprowadzania sandacza i okonia w stan znieczulenia ogólnego testowano następujące anestetyki: etomidat (Propiscin), MS-222, olejek goździkowy i 2-phenoxyethanol. Spośród nich, rekomendowanymi środkami są MS-222 i Propiscin (Hamáčková i in. 2001; Velisek i in. 2009). Niewątpliwie najpopularniejszym z nich jest MS-222. Wynika to między innymi z właściwości tego anestetyku, tj. szybkiej indukcji oraz równie szybkiego wybudzania ze stanu znieczulenia ogólnego. Ponadto jest to jedyny środek zalegalizowany w wielu krajach do stosowania w akwakulturze. Największą wadą MS-222 jest wysoka cena, co istotnie ogranicza jego powszechne stosowanie. Natomiast Propiscin oprócz bardzo dobrych właściwości znieczulania i wybudzania ryb ze stanu anestezji cechuje się również względnie przystępną ceną (Svačina i in. 2016). Jediną wadą tego preparatu jest to, iż nie jest on prawnie zalegalizowany do stosowania, m.in. ze względu na ograniczoną liczbę badań potwierdzających bezpieczeństwo jego stosowania u ryb. Wydaje się on jednak odpowiednim środkiem do indukcji znieczulenia ogólnego u tej grupy zwierząt. Propiscin jest stabilnym 0,2% roztworem etomidatu (Kazuń i Siwicki 2012). Anestetyk ten wywołuje szybki stan znieczulenia ogólnego u ryb oraz cechuje się krótkim czasem wybudzenia. Uznawany jest za preparat o niskiej toksyczności dla ryb i nieznacznych skutkach ubocznych (Kazuń i Siwicki 2012). Preparat ten okazał się skutecznym anestetykiem w przypadku różnych gatunków ryb: m.in. pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*), karpia (*Cyprinus carpio*), amura (*Ctenopharyngodon idella*) czy lipienia (*Thymallus thymallus*) (Kazuń i Siwicki 2012; Witeska i in. 2015). U sandacza i okonia Propiscin był testowany m.in. przez Hamáčková i in. (2001), Velisek i in. (2009) i Kristan i in. (2012). Jednak badania te dotyczyły głównie tempa indukcji znieczulenia ogólnego oraz wybranych wskaźników biochemicznych i nie dają pełnego obrazu wpływu tego anestetyku na organizm tych gatunków. Stężeniem najczęściej stosowanym w przypadku Propiscinu jest 1-2 ml l⁻¹ (Z. Zakęś, mat. niepublik.), natomiast w wyżej przytoczonych badaniach testowano wyłącznie jedno stężenie 1 ml l⁻¹. Bardziej kompleksowych informacji w kontekście wpływu stosowania anestetyków na organizm ryb mogą dostarczyć szersze badania nad ich oddziaływaniem

na wskaźniki hematologiczne i biochemiczne krwi ryb (Sopinka i in. 2016; Witeska i in. 2017).

Systemy recyrkulacyjne oprócz produkcji ryb konsumpcyjnych umożliwiają również zwiększenie skali i efektywności produkcji materiału zarybieniowego, wsiedlanego następnie do wód otwartych. Prowadzenie racjonalnej gospodarki rybackiej obliguje do stosowania systematycznych zarybień, adekwatnych do warunków środowiskowych danego zbiornika wodnego (Zakęś i in. 2015a). W celu weryfikacji efektów prowadzonych zarybień konieczne jest znakowanie ryb. Stosowane jest szerokie spektrum metod/technik zaliczanych do trzech podstawowych kategorii: biologicznych, chemicznych i fizycznych (McFarlane i in. 1990). W przypadku ryb okoniowatych stosowano głównie fizyczne, zewnętrzne metody znakowania (np. znamiona i obcinanie płetw) (np. Hansson i in. 1997; Hohauserova 2000). Ostatnio rozwija się i upowszechnia tzw. fizyczne, wewnętrzne metody znakowania ryb. Wykazano na przykład, że ryby okoniowate z powodzeniem można znakować znaczkami magnetycznymi (ang. *coded-wire-tags* (CWT)), czy też pasywnymi zintegrowanymi transponderami (ang. *passive integrated transponder* (PIT)) (Baras i in. 2000; Zakęś i Hopko 2013; Zakęś i in. 2015b). Jedną z technik umożliwiających nie tylko weryfikowanie efektów zarybień, ale również poznawanie i monitorowanie różnych aspektów życia ryb jest telemetria (Baras i Lagardère 1995; Thorstad i in. 2013). Stosowanie w pracach ichtiologicznych nadajników telemetrycznych (TT), pozwalających badać zachowanie i fizjologię poszczególnych osobników w ich naturalnym środowisku, stało się w ostatnich latach popularne i jest nadal rozwijane (Thorstad i in. 2013). Taka sytuacja jest efektem m.in. miniaturyzacji nadajników telemetrycznych, które tym samym w mniejszym stopniu oddziałują na znakowane ryby (Bridger i Booth 2003; Cooke i in. 2004; Caputo i in. 2009). Telemetria umożliwia lokalizację poszczególnych osobników z większych odległości, bez bezpośredniego ingerowania w ich naturalny behavior. Zaletą tej techniki monitoringu ichtiofauny jest to, że pozwala ona uzyskać o wiele więcej informacji w porównaniu do tradycyjnych metod znakowania ryb. Nadajniki wyposażone w odpowiednie sensory umożliwiają precyzyjną charakterystykę biotopu, w którym dany osobnik bytuje (np. głębokość, temperatura wody itp.) (Baktoft i in. 2012). Co istotne, badania telemetryczne mogą być prowadzone niezależnie od pory roku i pory dnia. Bardzo często telemetria jest jedyną rzetelną metodą pozwalającą ocenić efektywność zarybień, przeżywalność ryb, zachowania rozrodcze, aktywność dobową, czy też preferencje siedliskowe (Cooke i in.

2013; Thorstad i in. 2013; Dudgeon i in. 2015). Metoda ta sporadycznie była już stosowana również u ryb okoniowatych (m.in. u sandacza i okonia), w badaniach mających na celu poznanie biologii i behawioru, w tym szlaków wędrówek tarłowych tych ryb. W literaturze można odnaleźć doniesienia o stosowaniu nadajników TT u dorosłych osobników tych gatunków, o całkowitej długości ciała przekraczającej 40 cm (Jepsen i in. 2000; Koed i in. 2002; Vehanen i Lahti 2003). Na tle innych metod znakowania ryb implantację TT należy jednak uznać za procedurę dość inwazyjną, mającą charakter chirurgiczny. Standardowo nadajnik wprowadza się do jamy ciała ryby poprzez niewielkie nacięcie, a antenę (jeżeli w taką wyposażony jest nadajnik) wyprowadza się poprzez otwór umiejscowiony tuż za nim (Wagner i in. 2011). Rany poimplantacyjne zazwyczaj zaszywa się dwoma lub trzema szwami nici chirurgicznych, w zależności od rozmiaru nacięcia i wielkości znakowanych ryb (Koed i in. 2000; Horký i in. 2006). U innych gatunków ryb testowano też inne metody zamykania rany poimplantacyjnej, np. klejenie, pozostawienie rany bez zamknięcia (Baras i Jeandrain 1998; Cooke i in. 2011).

Podstawowym założeniem znakowania tego rodzaju nadajnikami, podobnie jak i innych metod znakowania, jest to, że obecność znacznika/nadajnika w ciele ryby nie wpływa na jej behawior, stan zdrowia czy procesy fizjologiczne (Cooke i in. 2011). Dlatego podczas planowania zabiegu znakowania TT należy wziąć pod uwagę możliwie jak najwięcej czynników mogących mieć wpływ na dobrostan znakowanych ryb zarówno w czasie tej procedury, jak i po tym zabiegu. Istotne jest np. dobranie wielkości nadajnika do rozmiaru ryby. Zakłada się, że masa TT nie powinna przekraczać 2% masy ciała ryby (Winter 1996; Jepsen i in. 2002). Ważny jest dobór odpowiedniej metody implantacji (miejsce i wielkość nacięcia, sposób zamknięcia rany, a także technika wyprowadzenia anteny na zewnątrz ciała) (Mulcahy 2003; Cooke i in. 2011). Ponadto na dobrostan znakowanych ryb bezpośredni wpływ ma również doświadczenie personelu oraz metoda indukcji znieczulenia ogólnego (Mulcahy 2003). Opracowanie i stosowanie optymalnej metody znakowania ryb nadajnikami telemetrycznymi pozwoli traktować dane uzyskane na grupie poznakowanych osobników jako reprezentatywne dla całej populacji (Bridger i Booth 2003; Cooke i in. 2011). Istotną wadą tej metody znakowania jest m.in. brak szerszych i udokumentowanych danych/informacji dotyczących oddziaływania implantacji nadajników TT na status zdrowotny i procesy fizjologiczne ryb.

Takich danych mogą dostarczyć badania wskaźników hematologicznych i biochemicznych krwi ryb. Ponieważ parametry te są silnie skorelowane z czynnikami środowiskowymi oddziałującymi na organizm ryb, a także z różnymi zmianami chorobowymi, oznaczenia tych parametrów są wykorzystywane do oceny stanu zdrowia ryb (Houston 1997; Clauss i in. 2008). Podstawową procedurą diagnostyczną jest badanie morfologii krwi. Ocena poziomu m.in. hemoglobiny, hematokrytu, erytrocytów, leukocytów czy trombocytów umożliwia rozpoznanie niedokrwistości, stanu zapalnego, infekcji czy innych procesów chorobowych (Clauss i in. 2008). Badanie morfologii krwi jest ponadto wykorzystywane m.in. podczas badań nad toksycznością różnych substancji (Javed i Usmani 2015; Lutnicka i in. 2019). Należy również wspomnieć, że erytrocyty są głównym wskaźnikiem różnych strategii adaptacji fizjologicznej organizmów wodnych, związanej ze zmianami środowiska (Val i in. 1992). Z kolei biochemiczne oznaczenia krwi (glukoza, białko całkowite, magnez itp.) są ważnym narzędziem diagnostycznym do oceny stresu, stanu odżywienia, a także gospodarki wodno-mineralnej ryb (Brinn i in. 2012). Należy pamiętać, że podczas interpretacji oznaczeń hematologicznych i biochemicznych ważne jest zachowanie pewnej ostrożności, ponieważ w przypadku ryb ogólnie przyjęte zakresy wartości poszczególnych wskaźników często nie uwzględniają czynników takich, jak wiek czy płeć ryby, pochodzenie (środowisko naturalne lub akwakultura), jakość wody czy pora roku. Na wynik parametrów hematologicznych i biochemicznych mogą bowiem mieć wpływ nawet podstawowe czynności manipulacyjne, tj. odłów, przenoszenie, a także sama procedura pobierania próbki krwi (Clauss i in. 2008).

Cel pracy

Zasadniczym celem prac badawczych składających się na przedmiotową rozprawę doktorską było określenie wpływu: (I) indukcji znieczulenia ogólnego za pomocą anestetyku Propiscin (etomidat) oraz (II) znieczulenia ogólnego i dootrzewnowej implantacji nadajników telemetrycznych na stan zdrowotny, fizjologiczny i kondycyjny młodocianych osobników dwóch gatunków z rodziny ryb okoniowatych, tj. sandacza i okonia. Natomiast cele szczegółowe objęły:

- określenie wpływu indukcji znieczulenia ogólnego Propiscinem na wskaźniki hematologiczne i biochemiczne młodocianego sandacza;
- przeanalizowanie efektów stosowania anestetyku (Propiscin) na parametry hematologiczne i biochemiczne młodocianego okonia;
- zbadanie wpływu stosowania dwóch metod zamykania ran po dootrzewnowej implantacji nadajników telemetrycznych (szycie lub klejenie ran) na wskaźniki kondycyjne, hematologiczne, biochemiczne młodocianego sandacza. Analizowano również retencję nadajników TT, szwów lub kleju oraz stan gojenia się ran poimplantacyjnych u tego gatunku;
- określenie wpływu dootrzewnowej implantacji nadajników TT na wskaźniki kondycyjne i fizjologiczne młodocianego okonia. Określano także efekty dwóch różnych metod zamykania ran poimplantacyjnych (szycie lub klejenie ran) w kontekście retencji nadajników TT oraz stanu gojenia się ran poimplantacyjnych.

Material i metody

Prace badawcze podzielono na dwa etapy (etap I i etap II). Etap I obejmował dwa doświadczenia, podczas których młodociane osobniki sandacza (doświadczenie I – praca 1) i okonia (doświadczenie II – praca 2) poddano działaniu środka znieczulającego o nazwie Propiscin (*Etomidatum* 0,02%). W ramach etapu II również przeprowadzono dwa doświadczenia (doświadczenie III – praca 3 oraz doświadczenie IV – praca 4). W doświadczeniach III i IV, w których młodocianemu sandaczowi i okoniowi implantowano nadajniki telemetryczne, rany poimplantacyjne zamykano szwami (wariant I) lub klejem tkankowym (wariant II).

Material badawczy, jego pochodzenie i warunki wstępnego podchowu

Material badawczy sandacza (doświadczenie I i III) pozyskano w wyniku tarła pozasezonowego przeprowadzonego w Zakładzie Hodowli Ryb Jesiotrowatych w Pieczarkach (ZHRJ; Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie (IRS)) (Zakęś 2007; Zakęś i in. 2013). Larwy i stadia juwenilne podchowowano w systemach RAS, zgodnie z wcześniej opracowanymi procedurami (Szkudlarek i Zakęś 2007; Zakęś 2017). Gdy narybek osiągnął średnią masę ciała ok. 10 g został przetransportowany w polietylenowych workach (20 l wody + 20 l tlenu, czas transportu – 2 h) do Zakładu Akwakultury (ZA IRS). Podchów prowadzono zgodnie z wcześniej opracowanymi wytycznymi (Zakęś 2017). Ryby podchowowano w prototypowych RAS, w basenach o kubaturze 0,2 m³. Podczas podchowu utrzymywano optymalne fizyczne i chemiczne warunki podchowu: temperatura wody 19,7 ± 0,1 °C, zakres pH 7,80-8,01, natlenienie na odpływie z basenów podchowowych nie spadało poniżej 7,3 mg O₂ l⁻¹, koncentracja całkowitego azotu amonowego (CAA = NH₄⁺-N + NH₃-N) mierzona na odpływie z basenów podchowowych nie przekraczała 0,2 mg CAA l⁻¹, a azotynów (NO₂-N) 0,1 mg NO₂-N l⁻¹.

W przypadku okonia (doświadczenie II i IV) zapłodnioną ikrę tego gatunku pozyskano z warunków naturalnych (jezioro Dgał Wielki, Pojezierze Mazurskie, północna Polska). Ikrę zebrano w czasie naturalnego tarła okonia, tj. na początku kwietnia. Ikrę obsadzono staw ziemny o powierzchni 0,2 ha, znajdujący się na terenie ZHRJ IRS. W takich warunkach przeprowadzono wstępny podchów do stadium narybku letniego (masa ciała około 0,2 g). W połowie czerwca narybek odłowiono ze stawu i umieszczono w RAS, w basenach o kubaturze 2 m³ (ZHRJ IRS). Po przeniesieniu narybku do RAS przyuczono go do pobierania paszy komponowanej.

Zastosowano procedurę opracowaną przez Policar i in. (2015). Gdy narybek osiągnął średnią masę ciała ok. 10 g, został przetransportowany do ZA IRS. Zastosowano warunki transportu analogiczne do używanych dla sandacza. Młodocianego okonia podchowano w RAS, w basenach o objętości 0,2 m³ (warunki środowiskowe podchowu zbliżone do notowanych w czasie podchowu młodocianego sandacza).

Procedury doświadczalne

W etapie I, w obu doświadczeniach, badania przeprowadzono na młodocianych osobnikach sandacza lub okonia. Doświadczenie I (sandacz) – średnia długość ciała (Lc) $25,9 \pm 1,5$ cm i średnia masa ciała (m.c.) $189,89 \pm 39,84$ g, doświadczenie II (okoń) – Lc $20,8 \pm 1,2$ cm i m.c. $162,98 \pm 29,40$ g. Oba doświadczenia przeprowadzono wg analogicznej procedury. Ryby podzielono na 8 grup doświadczalnych (grupy I-VIII) i jedną grupę kontrolną (n = 7) (Tabela 1). W obu doświadczeniach zastosowano dwa stężenia Propiscinu (1 lub 2 ml l⁻¹) oraz dwa czasy kąpieli (doświadczenie I – 2 lub 10 min; doświadczenie II – 3 lub 10 min). Czasy wprowadzania sandacza i okonia w stan znieczulenia ogólnego (2 lub 3 min) wytypowano na podstawie wcześniejszych pilotowych badań (M. Rożyński i in., mat. niepublik.). Kąpiele ryb przeprowadzano w plastikowym zbiorniku wypełnionym 20 litrami wodnego roztworu Propiscinu, sporządzonego na bazie wody z RAS pobranej z dopływów do basenów podchowowych o następujących parametrach: temperatura 21,3 °C, koncentracja tlenu 7,2 mg O₂ l⁻¹, odczyn wody pH 8,2, przewodnictwo elektrolityczne 380 μS cm⁻¹, twardość ogólna 170,0 mg CaCO₃ l⁻¹ (doświadczenie I), temperatura wody 21,4 °C, koncentracja tlenu 8,3 mg O₂ l⁻¹, odczyn wody pH 8,1, przewodnictwo elektrolityczne 446 μS cm⁻¹, twardość ogólna 295,9 mg CaCO₃ l⁻¹ (doświadczenie II). Od ryb z czterech pierwszych grup (I-IV), w obu doświadczeniach, próbki krwi pobierano bezpośrednio po zakończeniu kąpieli w roztworze anestetyku (0 h). Kąpiele ryb w tych grupach prowadzono indywidualnie, tzn. kąpiel kolejnego osobnika przeprowadzano dopiero po zakończeniu wszystkich manipulacji z osobnikiem go poprzedzającym. Natomiast 4 kolejne grupy ryb (V-VIII), poddano kąpielom grupowym (w analogicznych reżimach imersji; Tabela 1). Po kąpieli każdą z tych grup umieszczono w oddzielnym basenie w RAS. Natomiast próbki krwi od ryb z tych grup pobierano po upływie 24 h od zakończenia kąpieli (Tabela 1). Grupę kontrolną stanowiły osobniki poddane kąpieli w wodzie z RAS (bez dodatku anestetyku).

Tabela 1. Układ eksperymentu podczas kąpieli sandacza i okonia w roztworze anestetyku (Propiscin) (doświadczenie I i II) (n = 7)

Parametr	Jednostka	Grupa kontrolna	Grupy eksperymentalne							
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Stężenie anestetyku	ml l ⁻¹	0	1	1	2	2	1	1	2	2
Czas kąpieli*	min	0	2/3	10	2/3	10	2/3	10	2/3	10
Pobór prób	h	0	0	0	0	0	24	24	24	24

*sandacza usypiano przez 2 min, a okonia przez 3 min.

Młodociane osobniki sandacza w doświadczeniu III miały Lc $17,0 \pm 0,5$ cm i m.c. $59,78 \pm 4,55$ g (wariant I) oraz Lc $19,7 \pm 0,6$ cm i m.c. $86,90 \pm 6,43$ g (wariant II). Z kolei młodociane osobniki okonia w doświadczeniu IV miały Lc $16,3 \pm 0,7$ cm i m.c. $78,33 \pm 10,01$ g (wariant I) oraz Lc $15,6 \pm 0,5$ cm i m.c. $73,07 \pm 6,25$ g (wariant II). Oba doświadczenia przeprowadzono wg tej samej procedury. Przed implantacją nadajników TT (ATS Inc., Isanti, Minnesota, USA; model F1515 o deklarowanej masie 0,6 g, długości 13 mm, średnicy 5 mm i zakresie częstotliwości 148-150 MHz. Rzeczywista masa nadajników wynosiła 0,604-0,653 g) ryby po uprzednim uśpieniu w wodnym roztworze Propiscinu (1,5 ml l⁻¹) poznakowano pasywnymi zintegrowanymi transponderami (PIT; Fish Eagle, Lechlade, Wielka Brytania) (materiał – bioszkló; długość – $12,00 \pm 0,40$ mm, średnica – $2,12 \pm 0,07$ mm, masa – 0,093 g) (Zakęś i Hopko 2013) (umożliwiało to późniejszą identyfikację poszczególnych osobników). W ramach każdego z obu doświadczeń zastosowano dwie metody/warianty zamykania ran poimplantacyjnych. W wariacie I (grupa SST (sandacz) i OST (okoń)) rany zaszywano używając nieabsorbowlanych, wielofilamentowych, jedwabnych nici chirurgicznych (zakładano dwa szwy) (Jedwab Polski Sp. z o.o., Milanówek, Polska). Kontrolne grupy ryb, którym nie implantowano TT oznaczono jako: grupa SSK (sandacz) i grupa OSK (okoń). W wariacie II (grupa SKT (sandacz) i OKT (okoń)) w obu doświadczeniach zastosowano klej tkankowy Surgibond (SMI AG, St. Vith, Belgia). Kontrolne grupy ryb w tym wariacie oznaczono jako: grupa SKK (sandacz) i grupa OKK (okoń). Nadajniki TT, po uprzednim odkażeniu w 96% alkoholu etylowym, implantowano do jamy ciała poprzez 10-15 mm nacięcie wykonane skalpelem, umiejscowione na powłokach brzusznych około 20 mm za podstawą płetw piersiowych. Natomiast antenę, w którą wyposażone były nadajniki wyprowadzano na zewnątrz jamy brzusznej między płetwami brzuszными a odbytową (Wagner i in. 2011).

Rany poimplantacyjne dezynfekowano za pomocą Betadine (Lavipharm, Peania, Grecja). Każdorazowo mierzono czas implantacji TT (± 1 s). Po implantacji ryby przetrzymywano w 80-litrowych zbiornikach wypełnionych wodą z RAS, w celu wybudzenia ze znieczulenia ogólnego. Wodę napowietrzano za pomocą pompy LP-100 (air-pump, Shenzhen Xing Risheng Industrial Co., Ltd, Shenzhen, Chiny). W każdym z eksperymentów implantację nadajników TT przeprowadzono u 18 osobników, którymi obsadzano 3 zbiorniki podchowowe o kubaturze $0,2 \text{ m}^3$ (6 ryb w zbiorniku). Podczas podchowu, codziennie mierzono temperaturę wody ($\pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$) i koncentrację tlenu ($\pm 0,01 \text{ mg O}_2 \text{ l}^{-1}$) na dopływie i odpływie z basenów podchowowych. Natomiast zawartość całkowitego azotu amonowego ($\text{CAA} = \text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NH}_3\text{-N}$; $\pm 0,01 \text{ mg CAA l}^{-1}$) i azotynów ($\text{NO}_2\text{-N}$; $\pm 0,01 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$) oraz pH ($\pm 0,01$) mierzono na odpływie z basenów podchowowych raz na tydzień. W doświadczeniu III, w obu wariantach, średnia temperatura wody wynosiła $22,0 \pm 0,0 \text{ }^\circ\text{C}$. W wariantcie I koncentracja tlenu na odpływie z basenów nie spadała poniżej $7,29 \text{ O}_2 \text{ l}^{-1}$ (nasycenie 82,8%), a w wariantcie II $7,21 \text{ O}_2 \text{ l}^{-1}$ (nasycenie 82,1%). Koncentracja amoniaku i azotynów na odpływie nie przekraczała $0,08 \text{ mg CAA l}^{-1}$ i $0,007 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$ (wariant I) oraz $0,04 \text{ mg CAA l}^{-1}$ i $0,001 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$ (wariant II). Odczyn wody na odpływie w wariantcie I mieścił się w przedziale 7,96-8,00, natomiast w wariantcie II 7,77-7,94. W doświadczeniu IV w obu wariantach średnia temperatura wody podczas podchowu wynosiła $21,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$. W wariantcie I koncentracja tlenu na odpływie z basenów podchowowych nie spadała poniżej $7,43 \text{ O}_2 \text{ l}^{-1}$ (nasycenie 83,9%), a w wariantcie II $7,36 \text{ O}_2 \text{ l}^{-1}$ (nasycenie 83,5%). Koncentracja CAA i $\text{NO}_2\text{-N}$ na odpływie nie przekraczała $0,08 \text{ mg CAA l}^{-1}$ i $0,019 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$ (wariant I) oraz $0,08 \text{ mg CAA l}^{-1}$ i $0,013 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$ (wariant II). Odczyn wody na odpływie w wariantcie I mieścił się w przedziale 7,74-7,93, natomiast w wariantcie II 7,75-7,99.

W doświadczeniu III ryby były żywione paszą Aller Performa EX 3GR (AllerAqua, Christiansfeld, Dania) o podstawowym składzie chemicznym: białko (54%), tłuszcz surowy (15%), węglowodany (13%), celuloza (1,5%), popiół (8,5%) oraz wartości energii strawnej $19,1 \text{ MJ kg}^{-1}$. Natomiast w doświadczeniu IV rybom podawano paszę Aller Bronze 3 mm (AllerAqua, Christiansfeld, Dania) o podstawowym składzie chemicznym: białko (45%), tłuszcz surowy (15%), węglowodany (24%), celuloza (3%), popiół (7%) oraz wartości energii strawnej $17,6 \text{ MJ kg}^{-1}$. W obu doświadczeniach paszę zadawano za pomocą automatycznych karmników taśmowych (Fischtechnik GmbH, Nienburg, Niemcy) przez 18 h d^{-1} (09:00-

03:00). Dzienna dawka paszy była ustalana cotygodniowo na poziomie 1,5% biomasy ryb. W doświadczeniu III ryby podchowiano 5 tygodni, a w doświadczeniu IV 6 tygodni.

Przez cały czas trwania doświadczenia III i IV co 7 dni przeprowadzano pomiary indywidualne ryb, podczas których mierzono długość ciała L_c ($\pm 0,1$ cm) oraz masę ciała ($\pm 0,01$ g) (doświadczenie III – d0, d7, d14, d21, d28 i d35; doświadczenie IV – d0, d7, d14, d21, d28, d35, d42). Podczas pomiarów każdy osobnik był identyfikowany za pomocą czytnika znaczków PIT (Fish Eagle, Lechlade, Wielka Brytania). Weryfikowano również stan szwów albo kleju (Tabela 2; Deters i in. 2010) oraz makroskopowo oceniano stan ran poimplantacyjnych (Tabela 2; Miller i in. 2014).

Tabela 2. Kryteria oceny retencji szwów i kleju, makroskopowego wyglądu miejsc nacięcia i zmian rany poimplantacyjnej sandacza i okonia znakowanych nadajnikami telemetrycznymi

Ranga	Kryteria oceny retencji szwów albo kleju (Deters i in. 2010)
0	Brak szwów/kleju
1	Szwy/klej obejmują częściowo miejsce nacięcia
2	Szwy/klej obejmują miejsce nacięcia w całości
Kryteria oceny makroskopowego wyglądu miejsca nacięcia (Miller i in. 2014)	
0	Nacięcie zamknięte całkowicie i zagojone/brak śladów po nacięciu
1	Nacięcie zamknięte całkowicie, ale niezagojone
2	Nacięcie w trakcie gojenia, a brzegi rany tylko częściowo połączone tkanką
3	Nacięcie w trakcie gojenia, ale brzegi rany nie zamknięte/niepołączone tkanką
4	Nacięcie otwarte mniej niż w 50%
5	Nacięcie otwarte w ponad 50%
6	Nacięcie otwarte całkowicie
Kryteria oceny zmian rany poimplantacyjnej	
0	Rana czysta
1	Zaczerwienienia
2	Stan zapalny
3	Infekcja/martwica

Codziennie kontrolowano stopień wyżerowania paszy, ewentualną obecność w basenach znaczków PIT i TT, a także zachowanie i śmiertelność ryb. Na podstawie zebranych danych obliczono: dzienny przyrost masy ciała: DGR ($g\ d^{-1}$) = $(m.c._2 - m.c._1)$

$\times t^{-1}$, względny przyrost masy ciała: $SGR (\% d^{-1}) = 100 \times (\ln m.c._2 - \ln m.c._1) \times t^{-1}$; współczynnik kondycji Fultona: $F = (100 \times m.c.) \times Lc^{-3}$; współczynnik pokarmowy paszy: $FCR = P \times (B_1 - B_2)^{-1}$, gdzie: $m.c._1$ – początkowa masa ciała ryby (g), $m.c._2$ – końcowa masa ciała ryby (g), t – czas podchowu (doby), Lc – długość ciała (cm), B_1 – końcowa biomasa ryb (g), B_2 – początkowa biomasa ryb (g), P – całkowita dawka paszy (g).

W dniu zakończenia doświadczenia III (d35) i IV (d42) od każdego osobnika pobrano krew. Procedury poboru krwi w doświadczeniu I, II, III i IV były analogiczne. Próbkę krwi (ok. 1 ml) pobierano za pomocą heparynizowanych strzykawek (doświadczenie I i III – Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Niemcy; doświadczenie II i IV – Smiths Medical International ASD, Inc., St. Paul, Minnesota, USA) bezpośrednio z żyły ogonowej. Następnie krew przenoszono do próbek (Microtube 1,3 ml LH, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Niemcy) i po dokładnym rozmieszaniu (każda próbka oddzielnie) poddawano badaniu w półautomatycznym aparacie hematologicznym BC2800Vet (Mindray, Shenzhen, Chiny). Odczyty analizatora zostały skalibrowane do krwi kilku wybranych gatunków ryb, w tym sandacza, na podstawie tradycyjnych metod oznaczeń hematologicznych krwi ryb (Dacie i Lewis 2001). Kalibracja analizatora została przeprowadzona przez firmę Stamar (Dąbrowa Górnicza, Polska). Następnie próbkę krwi odwirowywano (6500 rpm; 20 °C; 2 min; Fresco 17, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), a otrzymane osocze poddawano oznaczeniom biochemicznym na automatycznym aparacie BS120 (Mindray, Shenzhen, Chiny). Do analizy wybrano najważniejsze wskaźniki hematologiczne (liczba białych krwinek (WBC), liczba czerwonych krwinek (RBC), liczba trombocytów (PLT), stężenie hemoglobiny (HGB), liczba hematokrytowa (HCT), średnia objętość krwinki czerwonej (MCV), średnia masa hemoglobiny w erytrocycie (MCH) i średnie stężenie hemoglobiny w erytrocycie (MCHC)) oraz biochemiczne (kreatynina (CREA), bilirubina całkowita (BIL-T), aminotransferaza asparaginianowa (AST), aminotransferaza alaninowa (ALT), fosfataza zasadowa (ALP), białko całkowite (TP), albuminy (ALB), globuliny (GLB), glukoza (GLU), mleczany (LACT), wapń (Ca) magnez (Mg), chlor (Cl) i amoniak (NH₃)).

Analiza statystyczna

Analiza statystyczna została przeprowadzona za pomocą programu Statistica 12 (StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA). Dane zostały poddane testowi na normalność rozkładu (test W Shapiro-Wilka) oraz jednorodność wariancji (test Levene'a).

Porównania statystycznego danych w doświadczeniach I i II dokonano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA). W przypadku wystąpienia różnic istotnych statystycznie, przeprowadzano dalszą analizę statystyczną za pomocą testu Tukeya. Różnice odnotowywano jako istotne dla $P \leq 0,05$. Natomiast w doświadczeniach III i IV użyto jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) z powtórzonymi pomiarami. Jeżeli test wykazywał istotność statystyczną dalszą analizę przeprowadzano z wykorzystaniem testu Tukeya. Różnice odnotowywano jako istotne dla $P \leq 0,05$. W przypadku wskaźników hematologicznych i biochemicznych istotność statystyczną sprawdzano za pomocą testu U Manna-Whitneya. Różnice odnotowywano jako istotne dla $P \leq 0,05$.

Wyniki

Wskaźniki hematologiczne

U sandacza (doświadczenie I) poddanego kąpielom w wodnym roztworze Propiscinu różnice obserwowano w przypadku czterech podstawowych parametrów morfologii krwi, tj. WBC, RBC, HGB i HCT (czas 0 h). Najwyższą liczbę białych krwinek (WBC) zaobserwowano u osobników, które poddano 10 min kąpielom w obydwu testowanych dawkach anestetyku ($P \leq 0,05$; Tabela 3). Jednak po upływie 24 h wartość WBC powróciła do poziomu wyjściowego, tj. stwierdzonego w grupie kontrolnej. Jedynie w grupie V istotnie wzrosła. W przypadku obu badanych stężeń anestetyku istotnie najwyższe wartości RBC, HGB i HCT odnotowane bezpośrednio po kąpiele (0 h) również dotyczyły osobników poddanych długotrwałym kąpielom w Propiscinie. Po upływie 24 h wartości tych wskaźników u wszystkich grup powróciły do poziomu porównywalnego z grupą kontrolną ($P > 0,05$; Tabela 3). W przypadku parametrów czerwonych krwinek różnice odnotowane bezpośrednio po zakończeniu kąpiele (0 h) dotyczyły: wzrostu MCV u grup poddanych 10 min kąpielom oraz spadku MCHC u grupy poddanej kąpiele w stężeniu 2 ml l^{-1} w czasie 10 min ($P \leq 0,05$; Tabela 3). W doświadczeniu II różnice istotne statystycznie (czas 0 h) odnotowano tylko w jednym podstawowym parametrze morfologii krwi okonia, tj. HCT oraz jednym parametrem czerwonych krwinek, tj. MCV. Istotnie podwyższoną wartość HCT stwierdzono u grupy poddanej kąpiele o stężeniu 1 ml l^{-1} w czasie 10 min. Natomiast w przypadku MCV podwyższone wartości tego parametru odnotowano u obu grup poddanych kąpielom w czasie 10 min oraz kąpiele trwającej 3 min przy stężeniu 2 ml l^{-1} ($P \leq 0,05$; Tabela 4). Wartości obu parametrów powróciły do wielkości wyjściowych po 24 h od zakończenia kąpiele ($P > 0,05$; Tabela 4).

W doświadczeniu III wśród wskaźników hematologicznych istotne statystycznie różnice wystąpiły tylko w wariancie I (zamykanie ran szwami). W grupie kontrolnej odnotowano wyższą wartość wskaźnika MCV oraz MCH ($P \leq 0,05$; Tabela 5). W przypadku pozostałych wskaźników, tj.: WBC, RBC, HGB, HCT, MCHC oraz PLT różnice międzygrupowe były statystycznie nieistotne. W doświadczeniu IV w wariancie I nie odnotowano istotnych statystycznie różnic między wartościami analizowanych wskaźników hematologicznych ($P > 0,05$; Tabela 6). Natomiast w wariancie II (zamykanie ran klejem) istotne różnice stwierdzono w przypadku wskaźników MCV i PLT ($P \leq 0,05$; Tabela 6). Średnia objętość krwinki czerwonej (MCV) w grupie OKT

Tabela 3. Wpływ znieczulenia ogólnego wywołanego kąpielą sandacza w Propiscinie (stężenie anestetyku 1 lub 2 ml l⁻¹; czas kąpieli 2 lub 10 min) na profil hematologiczny tego gatunku bezpośrednio (0 h) oraz 24 h po tym zabiegu

Parametr	Jednostka	Grupa kontrolna	Grupa I	Grupa II	Grupa III	Grupa IV	Grupa V	Grupa VI	Grupa VII	Grupa VIII
WBC	10 ³ μl ⁻¹	52,46 ^a (± 3,46)	76,83 ^{abc} (± 2,23)	90,39 ^c (± 4,07)	127,50 ^d (± 7,18)	117,20 ^d (± 4,35)	78,41 ^{bc} (± 7,13)	64,11 ^{ab} (± 8,58)	56,44 ^{ab} (± 4,56)	56,33 ^{ab} (± 5,38)
RBC	10 ⁶ μl ⁻¹	1,28 ^a (± 0,06)	1,46 ^{ab} (± 0,02)	1,71 ^b (± 0,07)	2,20 ^c (± 0,11)	2,09 ^c (± 0,07)	1,51 ^{ab} (± 0,08)	1,44 ^{ab} (± 0,12)	1,39 ^{ab} (± 0,07)	1,38 ^{ab} (± 0,08)
HGB	g l ⁻¹	30,43 ^a (± 1,51)	35,00 ^{ab} (± 0,65)	41,71 ^b (± 1,80)	54,29 ^c (± 2,33)	52,14 ^c (± 2,26)	37,57 ^{ab} (± 1,99)	33,14 ^{ab} (± 2,93)	31,86 ^a (± 1,30)	31,71 ^a (± 1,75)
HCT	%	24,19 ^a (± 1,03)	27,69 ^{ab} (± 0,69)	33,51 ^b (± 1,47)	45,47 ^c (± 1,92)	44,49 ^c (± 1,81)	28,33 ^{ab} (± 1,53)	26,57 ^{ab} (± 2,16)	25,31 ^a (± 1,02)	25,76 ^a (± 1,41)
MCV	fl	146,80 ^{ab} (± 2,99)	146,70 ^{ab} (± 2,24)	151,50 ^{bc} (± 1,63)	159,60 ^{cd} (± 1,79)	164,10 ^d (± 2,24)	145,50 ^{ab} (± 2,04)	143,20 ^{ab} (± 2,37)	141,10 ^a (± 1,75)	144,80 ^{ab} (± 1,46)
MCH	pg	29,19 (± 0,90)	29,47 (± 0,37)	29,70 (± 0,53)	29,99 (± 0,46)	30,39 (± 0,62)	30,46 (± 0,81)	28,33 (± 0,71)	28,10 (± 0,30)	28,21 (± 0,33)
MCHC	g l ⁻¹	199,30 ^{cde} (± 3,75)	201,30 ^d (± 1,97)	196,00 ^{ad} (± 1,96)	187,90 ^{ac} (± 1,79)	185,30 ^{ab} (± 1,71)	209,60 ^c (± 3,62)	198,30 ^{cde} (± 3,73)	199,60 ^{cde} (± 1,70)	195,40 ^{bcd} (± 2,46)

Objaśnienia:

WBC: białe krwinki, RBC: czerwone krwinki, HGB: hemoglobina, HCT: liczba hematokrytowa, MCV: średnia objętość krwinki czerwonej, MCH: średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej, MCHC: średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach czerwonych. Objasnienia grup – patrz Tabela 1. Wartość średnia (± SE) (n = 7). Grupy oznaczone różnymi indeksami literowymi różnią się istotnie statystycznie (P ≤ 0,05).

Tabela 4. Wpływ znieczulenia ogólnego wywołanego kąpielą okonia w Propiscinie (stężenie anestetyku 1 lub 2 ml l⁻¹; czas kąpieli 3 lub 10 min) na profil hematologiczny tego gatunku bezpośrednio (0 h) oraz 24 h po tym zabiegu

Parametr	Jednostka	Grupa kontrolna	Grupa I	Grupa II	Grupa III	Grupa IV	Grupa V	Grupa VI	Grupa VII	Grupa VIII
WBC	10 ³ μl ⁻¹	95,76 (± 3,67)	107,78 (± 3,33)	121,09 (± 4,09)	114,07 (± 6,53)	128,08 (± 11,83)	113,93 (± 11,41)	112,31 (± 3,88)	103,39 (± 7,62)	118,33 (± 6,18)
RBC	10 ⁶ μl ⁻¹	1,47 (± 0,07)	1,64 (± 0,10)	1,58 (± 0,06)	1,61 (± 0,07)	1,61 (± 0,10)	1,52 (± 0,12)	1,62 (± 0,04)	1,53 (± 0,09)	1,65 (± 0,06)
HGB	g l ⁻¹	28,06 (± 1,40)	31,28 (± 1,43)	33,46 (± 1,07)	31,11 (± 1,52)	30,30 (± 2,05)	28,67 (± 1,92)	33,55 (± 1,68)	28,58 (± 1,45)	30,41 (± 2,02)
HCT	%	29,30 ^a (± 1,35)	34,06 ^{ab} (± 1,64)	35,74 ^{ab} (± 1,13)	36,39 ^b (± 1,09)	36,05 ^{ab} (± 1,91)	29,70 ^{ab} (± 1,91)	33,60 ^{ab} (± 1,10)	30,49 ^{ab} (± 1,58)	32,54 ^{ab} (± 1,44)
MCV	fl	148,24 ^a (± 2,48)	154,67 ^{ab} (± 3,19)	168,23 ^b (± 1,92)	168,89 ^b (± 3,46)	168,10 ^b (± 5,03)	146,13 ^a (± 5,02)	154,04 ^{ab} (± 1,89)	148,31 ^a (± 1,84)	147,23 ^a (± 6,11)
MCH	pg	31,34 (± 1,07)	31,40 (± 1,08)	34,87 (± 1,39)	31,94 (± 1,66)	31,50 (± 2,25)	31,31 (± 1,93)	33,86 (± 1,02)	30,71 (± 0,76)	30,36 (± 2,07)
MCHC	g l ⁻¹	211,71 (± 4,95)	203,14 (± 3,48)	207,29 (± 5,63)	188,57 (± 6,85)	186,00 (± 8,18)	213,29 (± 6,10)	219,86 (± 4,1)	207,14 (± 3,46)	205,43 (± 6,34)
PLT	10 ³ μl ⁻¹	16,57 (± 3,32)	19,57 (± 1,81)	19,71 (± 2,35)	19,43 (± 3,95)	19,67 (± 2,70)	40,86 (± 24,69)	17,86 (± 3,35)	16,00 (± 0,76)	22,29 (± 1,90)

Objaśnienia:

PLT: trombocyty, objaśnienia pozostałych parametrów – patrz Tabela 3. Objaśnienia grup – patrz Tabela 1. Wartość średnia (± SE) (n = 7). Grupy oznaczone różnymi indeksami literowymi różnią się istotnie statystycznie (P ≤ 0,05).

Tabela 5. Wskaźniki hematologiczne sandacza po zastosowaniu różnych metod zamykania ran po implantacji nadajników telemetrycznych (wariant I – grupa kontrolna (SSK) i grupa z ranami sztytami (SST) oraz wariant II – grupa kontrolna (SKK) i grupa z ranami klejonami (SKT))

Parametr	Jednostka	Wariant I		Wariant II	
		grupa SSK	grupa SST	grupa SKK	grupa SKT
WBC	$10^3 \mu\text{l}^{-1}$	69,72 ($\pm 18,11$)	71,14 ($\pm 12,74$)	71,48 ($\pm 12,37$)	71,73 ($\pm 16,93$)
RBC	$10^6 \mu\text{l}^{-1}$	1,64 ($\pm 0,21$)	1,63 ($\pm 0,21$)	1,65 ($\pm 0,16$)	1,55 ($\pm 0,23$)
HGB	g l^{-1}	36,61 ($\pm 4,75$)	34,69 ($\pm 4,21$)	38,67 ($\pm 4,49$)	37,06 ($\pm 5,62$)
HCT	%	27,14 ($\pm 3,07$)	25,52 ($\pm 3,57$)	26,69 ($\pm 2,86$)	25,02 ($\pm 3,55$)
MCV	fl	122,93 ^b ($\pm 5,84$)	116,16 ^a ($\pm 8,14$)	119,94 ($\pm 8,43$)	120,08 ($\pm 8,52$)
MCH	pg	22,26 ^b ($\pm 1,39$)	21,26 ^a ($\pm 1,14$)	23,34 ($\pm 1,63$)	23,88 ($\pm 1,87$)
MCHC	g l^{-1}	181,50 ($\pm 8,89$)	183,50 ($\pm 8,45$)	195,22 ($\pm 8,03$)	199,35 ($\pm 10,65$)
PLT	$10^3 \mu\text{l}^{-1}$	18,89 ($\pm 4,87$)	20,25 ($\pm 15,49$)	20,33 ($\pm 5,88$)	19,06 ($\pm 7,75$)

Objaśnienia:

Objaśnienia parametrów – patrz Tabela 3 i Tabela 4. Objasnienia grup – patrz Tabela 1. Wartość średnia (\pm SD) (n = 18). Grupy oznaczone różnymi indeksami literowymi różnią się istotnie statystycznie ($P \leq 0,05$).

Tabela 6. Wskaźniki hematologiczne okonia po zastosowaniu różnych metod zamykania ran po implantacji nadajników telemetrycznych (wariant I – grupa kontrolna (OSK) i grupa z ranami sztytami (OST) oraz wariant II – grupa kontrolna (OKK) i grupa z ranami klejonami (OKT))

Parametr	Jednostka	Wariant I		Wariant II	
		grupa OSK	grupa OST	grupa OKK	grupa OKT
WBC	$10^3 \mu\text{l}^{-1}$	127,66 ($\pm 15,32$)	133,74 ($\pm 19,42$)	125,96 ($\pm 16,36$)	120,83 ($\pm 25,72$)
RBC	$10^6 \mu\text{l}^{-1}$	1,67 ($\pm 0,19$)	1,68 ($\pm 0,14$)	1,58 ($\pm 0,14$)	1,46 ($\pm 0,17$)
HGB	g l^{-1}	38,09 ($\pm 5,68$)	38,56 ($\pm 3,79$)	39,38 ($\pm 6,21$)	33,91 ($\pm 4,22$)
HCT	%	30,76 ($\pm 3,95$)	31,18 ($\pm 2,69$)	30,56 ($\pm 4,09$)	26,41 ($\pm 3,67$)
MCV	fl	142,21 ($\pm 7,35$)	143,41 ($\pm 4,74$)	148,82 ^b ($\pm 10,50$)	139,90 ^a ($\pm 8,76$)
MCH	pg	27,76 ($\pm 2,36$)	27,99 ($\pm 1,59$)	30,21 ($\pm 3,05$)	28,42 ($\pm 2,66$)
MCHC	g l^{-1}	195,17 ($\pm 9,48$)	195,46 ($\pm 8,33$)	203,00 ($\pm 9,39$)	203,30 ($\pm 10,65$)
PLT	$10^3 \mu\text{l}^{-1}$	24,00 ($\pm 6,38$)	25,08 ($\pm 9,00$)	21,38 ^b ($\pm 6,06$)	15,90 ^a ($\pm 3,67$)

Objaśnienia:

Objasnienia parametrów – patrz Tabela 3 i Tabela 4. Objasnienia grup – patrz Tabela 1. Wartość średnia (\pm SD) (n = 18). Grupy oznaczone różnymi indeksami literowymi różnią się istotnie statystycznie ($P \leq 0,05$).

była około 6% mniejsza niż w grupie kontrolnej (OKK), natomiast liczba trombocytów w tej samej grupie, w porównaniu do grupy kontrolnej była o około 26% mniejsza (Tabela 6).

Wskaźniki biochemiczne

W doświadczeniu I analiza wskaźników biochemicznych osocza krwi, przeprowadzona bezpośrednio po zakończeniu kąpieli (0 h), wykazała różnice istotne statystycznie w przypadku 10 spośród 11 oznaczanych wskaźników. Wzrost stężenia glukozy odnotowano u obu grup sandacza poddanych kąpielom trwającym 10 min. Podwyższone wartości białka całkowitego obserwowano również w grupach poddanych 10 min kąpielom oraz grupie poddanej 2 min kąpieli przy stężeniu 2 ml l^{-1} . U wszystkich grup doświadczalnych stwierdzono istotnie podwyższone wartości globulin. Istotny wzrost stężenia odnotowano również w przypadku kreatyniny. Stwierdzono go u obu grup sandacza poddanych kąpielom w czasie 10 min ($1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$ i $2 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$). We wszystkich grupach obserwowano ponad dwukrotny, istotny wzrost stężenia amoniaku w osoczu krwi obwodowej. W przypadku każdego z trzech oznaczanych wskaźników wątrobowych różnice istotne statystycznie zaobserwowano u niektórych grup doświadczalnych: podwyższony poziom bilirubiny i ALT u grupy III ($1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$), ALP u grupy II ($2 \text{ ml l}^{-1}/2 \text{ min}$). Z kolei wzrost stężenia jonów wapnia i magnezu odnotowano w przypadku wszystkich grup doświadczalnych, od których krew pobierano bezpośrednio po zakończeniu kąpieli (grupy I-IV) ($P \leq 0,05$; Tabela 7). Po 24 h od zakończenia kąpieli wszystkie analizowane wskaźniki biochemiczne powróciły do wartości wyjściowych, nie odnotowano już istotnych różnic międzygrupowych ($P > 0,05$; Tabela 7). Analiza wskaźników biochemicznych okonia w doświadczeniu II, bezpośrednio po zakończeniu trwania kąpieli (0 h), wykazała istotne różnice w przypadku 4 spośród 14 oznaczanych parametrów. Najwyższy wzrost stężenia glukozy w osoczu badanych ryb stwierdzono w grupie I ($1 \text{ ml l}^{-1}/3 \text{ min}$). Wartość tego parametru była ponad dwukrotnie wyższa w porównaniu do grupy kontrolnej i różniła się istotnie od pozostałych trzech grup doświadczalnych ($P \leq 0,05$; Tabela 8). Istotnie podwyższone wartości glukozy stwierdzono również w grupie II ($2 \text{ ml l}^{-1}/3 \text{ min}$). Drugim parametrem, w przypadku którego wykazano istotność statystyczną były mleczany. Podwyższone wartości tego wskaźnika odnotowano w obu grupach okonia poddanych kąpielom trwającej 3 min (grupa I ($1 \text{ ml l}^{-1}/3 \text{ min}$) i grupa II ($2 \text{ ml l}^{-1}/3 \text{ min}$) oraz w grupie III ($1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$).

Tabela 7. Wpływ znieczulenia ogólnego wywołanego kąpielą sandacza w Propiscinie (stężenie anestetyku 1 lub 2 ml l⁻¹; czas kąpieli 2 lub 10 min) na profil biochemiczny tego gatunku bezpośrednio (0 h) oraz 24 h po tym zabiegu

Parametr	Jednostka	Grupa kontrolna	Grupa I	Grupa II	Grupa III	Grupa IV	Grupa V	Grupa VI	Grupa VII	Grupa VIII
TP	g dl ⁻¹	3,48 ^a (± 0,24)	4,37 ^{bc} (± 0,09)	4,61 ^c (± 0,15)	4,63 ^c (± 0,13)	4,69 ^c (± 0,23)	3,54 ^a (± 0,09)	3,67 ^a (± 0,07)	3,59 ^a (± 0,09)	3,71 ^{ab} (± 0,16)
ALB	g dl ⁻¹	1,29 (± 0,14)	1,42 (± 0,06)	1,44 (± 0,08)	1,60 (± 0,10)	1,76 (± 0,17)	1,33 (± 0,05)	1,31 (± 0,04)	1,33 (± 0,04)	1,42 (± 0,17)
GLB	g dl ⁻¹	2,20 ^a (± 0,13)	2,95 ^b (± 0,07)	3,17 ^b (± 0,14)	3,03 ^b (± 0,13)	2,93 ^b (± 0,10)	2,21 ^a (± 0,06)	2,35 ^a (± 0,04)	2,26 ^a (± 0,06)	2,28 ^a (± 0,07)
CREA	mg dl ⁻¹	0,17 ^a (± 0,04)	0,17 ^a (± 0,02)	0,19 ^{ac} (± 0,05)	0,41 ^d (± 0,08)	0,39 ^{bcd} (± 0,08)	0,17 ^a (± 0,02)	0,14 ^a (± 0,02)	0,18 ^a (± 0,01)	0,17 ^a (± 0,03)
GLU	mg dl ⁻¹	58,00 ^a (± 6,00)	65,71 ^a (± 3,04)	78,43 ^a (± 7,59)	139,10 ^b (± 22,07)	142,90 ^b (± 20,76)	67,14 ^a (± 5,00)	63,29 ^a (± 2,88)	65,71 ^a (± 5,07)	57,57 ^a (± 5,02)
NH ₃	μg dl ⁻¹	519,60 ^a (± 46,18)	1648,00 ^b (± 61,50)	1607,00 ^b (± 126,20)	1385,00 ^b (± 134,80)	1181,00 ^b (± 93,06)	427,90 ^a (± 27,24)	457,50 ^a (± 48,95)	443,20 ^a (± 56,68)	499,70 ^a (± 64,44)
BIL-T	mg dl ⁻¹	0,13 ^{ac} (± 0,04)	0,17 ^{bcd} (± 0,02)	0,40 ^{ce} (± 0,16)	0,42 ^{de} (± 0,03)	0,22 ^{bcd} (± 0,03)	0,17 ^{bcd} (± 0,04)	0,14 ^{ac} (± 0,03)	0,10 ^{ab} (± 0,01)	0,14 ^{ac} (± 0,03)
ALT	U l ⁻¹	12,67 ^b (± 4,20)	10,29 ^{ab} (± 2,45)	12,00 ^{ab} (± 3,82)	15,14 ^a (± 4,12)	30,29 ^{ab} (± 9,35)	21,43 ^{ab} (± 2,10)	11,29 ^b (± 2,98)	12,57 ^b (± 8,16)	7,71 ^{ab} (± 2,24)
ALP	U l ⁻¹	56,00 ^a (± 5,90)	66,00 ^{ab} (± 5,01)	78,29 ^b (± 3,98)	66,14 ^{ab} (± 5,25)	62,14 ^{ab} (± 4,21)	60,71 ^{ab} (± 2,87)	61,57 ^{ab} (± 3,58)	63,14 ^{ab} (± 2,94)	58,14 ^a (± 3,62)
Ca	mg dl ⁻¹	10,70 ^a (± 0,29)	13,31 ^{bc} (± 0,27)	13,71 ^c (± 0,46)	13,53 ^c (± 0,49)	12,93 ^c (± 0,46)	11,13 ^{ab} (± 0,09)	11,13 ^a (± 0,14)	10,79 ^a (± 0,08)	10,57 ^a (± 0,18)
Mg	mg dl ⁻¹	2,69 ^a (± 0,10)	4,09 ^b (± 0,12)	3,89 ^b (± 0,22)	4,06 ^b (± 0,13)	3,60 ^b (± 0,15)	2,84 ^a (± 0,06)	2,87 ^a (± 0,06)	2,69 ^a (± 0,05)	2,53 ^a (± 0,08)

Objaśnienia:

TP: białko całkowite, ALB: albuminy, GLB: globuliny, CREA: kreatynina, GLU: glukoza, NH₃: amoniak, BIL-T: bilirubina całkowita, ALT: aminotransferaza alaninowa, ALP: fosfataza zasadowa, Ca: wapń, Mg: magnez. Objasnienia grup – patrz Tabela 1. Wartość średnia (± SE) (n = 7). Grupy oznaczone różnymi indeksami literowymi różnią się istotnie statystycznie (P ≤ 0,05).

Tabela 8. Wpływ znieczulenia ogólnego wywołanego kąpielą okonia w Propiscinie (stężenie anestetyku 1 lub 2 ml l⁻¹; czas kąpieli 3 lub 10 min) na profil biochemiczny tego gatunku bezpośrednio (0 h) oraz 24 h po tym zabiegu

Parametr	Jednostka	Grupa kontrolna	Grupa I	Grupa II	Grupa III	Grupa IV	Grupa V	Grupa VI	Grupa VII	Grupa VIII
TP	g dl ⁻¹	4,03 (± 0,20)	4,54 (± 0,12)	4,60 (± 0,27)	4,24 (± 0,20)	4,27 (± 0,30)	3,83 (± 0,31)	4,49 (± 0,16)	3,98 (± 0,14)	4,26 (± 0,14)
ALB	g dl ⁻¹	1,40 (± 0,06)	1,55 (± 0,02)	1,52 (± 0,05)	1,51 (± 0,05)	1,47 (± 0,08)	1,42 (± 0,11)	1,61 (± 0,09)	1,46 (± 0,04)	1,56 (± 0,04)
GLB	g dl ⁻¹	2,64 (± 0,14)	2,99 (± 0,10)	3,08 (± 0,22)	2,72 (± 0,17)	2,80 (± 0,23)	2,41 (± 0,21)	2,87 (± 0,07)	2,52 (± 0,10)	2,71 (± 0,10)
CREA	mg dl ⁻¹	0,45 ^{ac} (± 0,06)	0,22 ^a (± 0,03)	0,34 ^{ab} (± 0,05)	0,53 ^{bc} (± 0,09)	0,63 ^c (± 0,08)	0,43 ^{ac} (± 0,08)	0,50 ^{ac} (± 0,06)	0,29 ^a (± 0,03)	0,40 ^{ac} (± 0,03)
GLU	mg dl ⁻¹	100,00 ^{ac} (± 8,91)	229,20 ^d (± 14,37)	156,43 ^b (± 9,22)	125,00 ^{bc} (± 7,24)	116,86 ^{ab} (± 7,94)	82,71 ^a (± 8,97)	89,50 ^{ac} (± 3,64)	79,14 ^a (± 2,47)	100,57 ^{ac} (± 11,74)
LACT	mg dl ⁻¹	6,59 ^{ab} (± 1,28)	29,36 ^d (± 0,40)	27,61 ^d (± 0,65)	20,71 ^{cd} (± 1,25)	16,96 ^{abd} (± 1,17)	7,54 ^{ac} (± 1,71)	3,65 ^a (± 0,24)	3,74 ^a (± 0,56)	18,33 ^{bcd} (± 8,39)
NH ₃	μg dl ⁻¹	78,83 ^{ac} (± 5,84)	104,74 ^{cd} (± 6,20)	143,49 ^d (± 11,66)	109,43 ^{cd} (± 14,05)	102,83 ^c (± 6,59)	70,91 ^{ac} (± 8,27)	78,02 ^{ac} (± 8,67)	59,46 ^a (± 2,39)	81,23 ^{ac} (± 10,67)
BIL-T	mg dl ⁻¹	0,11 (± 0,04)	0,11 (± 0,01)	0,11 (± 0,01)	0,18 (± 0,05)	0,18 (± 0,04)	0,09 (± 0,01)	0,11 (± 0,02)	0,09 (± 0,01)	0,16 (± 0,03)
ALT	U l ⁻¹	24,00 (± 8,14)	14,20 (± 4,53)	21,86 (± 6,49)	19,71 (± 3,28)	26,71 (± 8,40)	15,71 (± 5,06)	22,00 (± 5,20)	8,86 (± 2,34)	9,14 (± 2,55)
ALP	U l ⁻¹	39,86 (± 3,38)	49,00 (± 2,16)	44,71 (± 4,60)	45,14 (± 2,60)	43,00 (± 5,54)	46,00 (± 5,67)	43,33 (± 5,15)	36,29 (± 3,56)	42,71 (± 2,00)
AST	U l ⁻¹	175,57 (± 43,05)	114,20 (± 15,18)	131,71 (± 42,24)	142,29 (± 22,81)	165,43 (± 54,86)	103,43 (± 37,72)	183,00 (± 35,28)	57,00 (± 16,22)	95,00 (± 20,96)
Cl	mmol l ⁻¹	243,27 ^{ab} (± 14,83)	273,80 ^b (± 10,78)	270,53 ^b (± 11,24)	246,34 ^{ab} (± 14,04)	259,67 ^{ab} (± 11,37)	207,27 ^a (± 21,99)	249,65 ^{ab} (± 7,21)	225,49 ^{ab} (± 7,18)	249,74 ^{ab} (± 14,98)
Ca	mg dl ⁻¹	10,52 ^a (± 0,27)	12,30 ^b (± 0,23)	12,17 ^{ab} (± 0,35)	11,09 ^{ab} (± 0,43)	11,66 ^{ab} (± 0,24)	9,80 ^a (± 0,78)	10,90 ^{ab} (± 0,16)	10,44 ^{ab} (± 0,18)	11,31 ^{ab} (± 0,35)
Mg	mg dl ⁻¹	2,88 ^b (± 0,13)	2,95 ^b (± 0,04)	3,10 ^b (± 0,10)	2,91 ^b (± 0,08)	2,96 ^b (± 0,12)	2,37 ^a (± 0,17)	2,69 ^{ab} (± 0,15)	2,37 ^a (± 0,03)	3,03 ^b (± 0,07)

Objaśnienia:

LACT: mleczany, AST: aminotransferaza asparaginianowa, Cl: chlorki; objaśnienia pozostałych parametrów – patrz Tabela 7. Objaśnienia grup – patrz Tabela 1. Wartość średnia (± SE) (n = 7). Grupy oznaczone różnymi indeksami literowymi różnią się istotnie statystycznie (P ≤ 0,05).

Podwyższone wartości amoniaku wystąpiły tylko w jednej grupie doświadczalnej (grupa II, 2 ml l⁻¹/3 min). Ostatnim parametrem, w przypadku którego bezpośrednio po zakończeniu kąpieli wykazano istotność statystyczną był wapń. Istotnie podwyższone wartości stężenia wapnia odnotowano u grupy I (1 ml l⁻¹/3 min) ($P \leq 0,05$; Tabela 8). Po 24 h od zakończenia kąpieli wartości wszystkich parametrów, poza magnezem, powróciły do wartości porównywalnych z grupą kontrolną ($P > 0,05$; Tabela 8). W przypadku magnezu, istotny spadek jego stężenia w osoczu krwi okonia odnotowano u obu grup doświadczalnych poddanych kąpieli o stężeniu anestetyku 1 ml l⁻¹ (grupy V i VII, 1 ml l⁻¹/3 min i 1 ml l⁻¹/10 min) ($P \leq 0,05$; Tabela 8).

Tabela 9. Wskaźniki biochemiczne sandacza po zastosowaniu różnych metod zamykania ran po implantacji nadajników telemetrycznych (wariant I – grupa kontrolna (SSK) i grupa z ranami sztytami (SST) oraz wariant II – grupa kontrolna (SKK) i grupa z ranami klejowymi (SKT)

Parametr	Jednostka	Wariant I		Wariant II	
		grupa SSK	grupa SST	grupa SKK	grupa SKT
TP	g dl ⁻¹	4,11 (± 0,36)	4,01 (± 0,35)	3,73 (± 0,36)	3,63 (± 0,43)
ALB	g dl ⁻¹	1,46 (± 0,23)	1,48 (± 0,13)	1,31 (± 0,23)	1,26 (± 0,23)
GLB	g dl ⁻¹	2,65 (± 0,20)	2,52 (± 0,28)	2,42 (± 0,20)	2,36 (± 0,28)
CREA	mg dl ⁻¹	0,27 ^b (± 0,19)	0,09 ^a (± 0,07)	0,24 (± 0,20)	0,22 (± 0,21)
GLU	mg dl ⁻¹	65,00 (± 11,66)	55,35 (± 14,21)	64,83 (± 26,58)	66,06 (± 28,70)
NH ₃	μg dl ⁻¹	670,32 ^a (± 176,25)	899,55 ^b (± 398,36)	477,91 (± 171,92)	464,81 (± 133,57)
BIL-T	mg dl ⁻¹	0,07 (± 0,08)	0,06 (± 0,03)	0,13 (± 0,13)	0,12 (± 0,16)
ALT	U l ⁻¹	59,83 (± 54,85)	44,29 (± 42,27)	43,56 (± 45,09)	64,88 (± 66,89)
ALP	U l ⁻¹	74,06 ^b (± 17,71)	54,94 ^a (± 21,59)	70,44 ^b (± 17,88)	54,24 ^a (± 14,73)
Ca	mg dl ⁻¹	10,58 (± 1,83)	10,44 (± 0,93)	10,83 (± 0,50)	10,63 (± 0,44)
Mg	mg dl ⁻¹	2,57 ^b (± 0,17)	2,43 ^a (± 0,14)	2,51 (± 0,11)	2,48 (± 0,08)

Objaśnienia:

Objaśnienia parametrów – patrz Tabela 7. Objasnienia grup – patrz Tabela 1. Wartość średnia (± SD) (n = 18). Grupy oznaczone różnymi indeksami literowymi różnią się istotnie statystycznie ($P \leq 0,05$).

W doświadczeniu III, w wariacie I, u sandacza z grupy kontrolnej odnotowano istotny statystycznie trzykrotnie wyższy poziom kreatyniny (CREA), wyższy poziom magnezu (Mg) oraz niższy poziom amoniaku (NH₃) ($P \leq 0,05$; Tabela 9). Pozostałe parametry w obu wariantach nie różniły się istotnie ($P > 0,05$; Tabela 9), oprócz fosfatazy

zasadowej (ALP), której aktywność w przypadku obu wariantów była niższa w grupach ryb znakowanych TT ($P \leq 0,05$; Tabela 9). W doświadczeniu IV w oznaczeniach biochemicznych w wariantcie I, w grupie OST, stwierdzono istotnie niższą aktywność ALP (o ok. 40%) oraz niższe stężenie magnezu (o ok. 10%) ($P \leq 0,05$; Tabela 10). W przypadku pozostałych parametrów z wariantu I oraz wszystkich parametrów z wariantu II nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic międzygrupowych ($P > 0,05$; Tabela 10).

Tabela 10. Wskaźniki biochemiczne okonia po zastosowaniu różnych metod zamykania ran po implantacji nadajników telemetrycznych (wariant I – grupa kontrolna (OSK) i grupa z ranami szytymi (OST) oraz wariant II – grupa kontrolna (OKK) i grupa z ranami klejonymi (OKT)

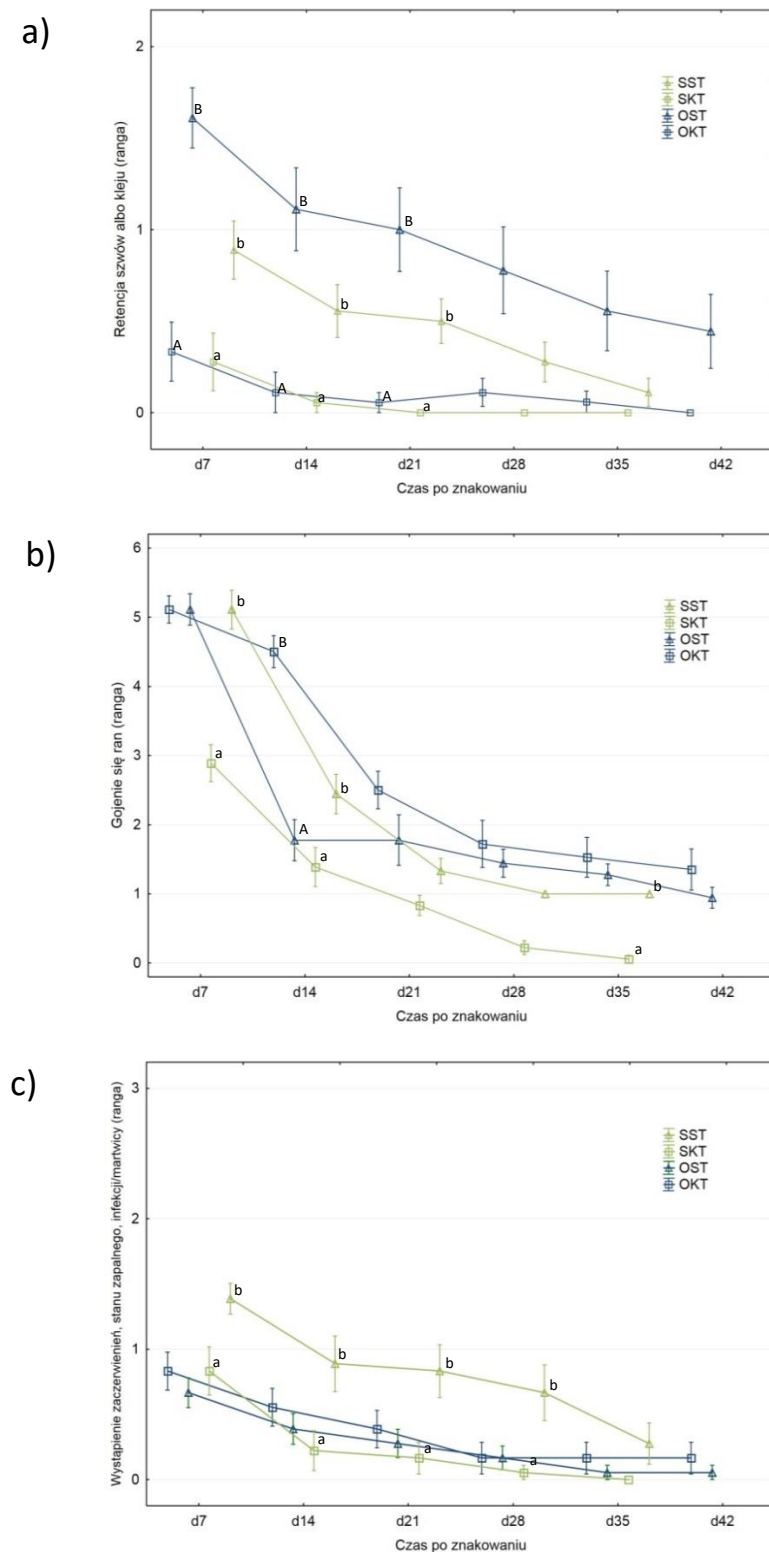
Parametr	Jednostka	Wariant I		Wariant II	
		grupa OSK	grupa OST	grupa OKK	grupa OKT
TP	g dl ⁻¹	4,34 (± 0,62)	4,08 (± 0,45)	3,72 (± 1,27)	4,01 (± 0,20)
ALB	g dl ⁻¹	1,60 (± 0,19)	1,54 (± 0,14)	1,41 (± 0,25)	1,49 (± 0,08)
GLB	g dl ⁻¹	2,74 (± 0,46)	2,54 (± 0,35)	2,58 (± 0,49)	2,52 (± 0,16)
CREA	mg dl ⁻¹	0,15 (± 0,09)	0,17 (± 0,16)	0,43 (± 0,99)	0,11 (± 0,08)
GLU	mg dl ⁻¹	146,07 (± 63,64)	116,38 (± 49,06)	123,93 (± 53,03)	102,58 (± 53,62)
NH ₃	μg dl ⁻¹	487,04 (± 93,30)	420,42 (± 132,56)	470,32 (± 138,03)	388,38 (± 86,77)
BIL-T	mg dl ⁻¹	0,17 (± 0,10)	0,22 (± 0,16)	0,23 (± 0,16)	0,18 (± 0,07)
ALT	U l ⁻¹	33,29 (± 39,13)	21,77 (± 46,07)	28,86 (± 32,45)	23,25 (± 31,24)
ALP	U l ⁻¹	42,79 ^b (± 13,83)	25,54 ^a (± 9,51)	35,86 (± 16,20)	37,33 (± 23,97)
Ca	mg dl ⁻¹	12,56 (± 1,09)	11,98 (± 0,77)	11,94 (± 1,54)	11,58 (± 0,59)
Mg	mg dl ⁻¹	2,49 ^b (± 0,33)	2,24 ^a (± 0,32)	2,54 (± 0,27)	2,54 (± 0,31)

Objaśnienia:

Objaśnienia parametrów – patrz Tabela 7. Objasnienia grup – patrz Tabela 1. Wartość średnia (± SD) (n = 18). Grupy oznaczone różnymi indeksami literowymi różnią się istotnie statystycznie ($P \leq 0,05$).

Wskaźniki efektów implantacji nadajników TT

Podczas oceny jakości szwów lub kleju u sandacza w doświadczeniu III stwierdzono istotne różnice międzygrupowe (grupa SKT wobec grupy SST). Klej w grupie SKT został w większości przypadków złuszczonej już w pierwszym tygodniu



Rysunek 1. Wskaźniki efektów implantacji nadajników TT u sandacza i okonia z dwoma różnymi metodami zamknięcia ran poimplantacyjnych: wariant I – szwy (SST – sandacz, OST – okoń), wariant II – klej (SKT – sandacz, OKT – okoń). Retencja szwów (a), gojenie się ran (b), wystąpienie zaczerwienień, stanu zapalnego, infekcji/martwicy (c), patrz Tabela 2. Dane z różnymi indeksami z tego samego tygodnia i dla tego samego gatunku różnią się istotnie statystycznie ($P \leq 0,05$) (wartość średnia \pm SE, $n = 18$).

po implantacji TT. Natomiast ubytki szwów w grupie SST notowano przez cały czas badań. Istotna statystycznie różnica międzygrupowa w wartości rang retencji kleju/szwów była odnotowywana do trzeciego tygodnia doświadczenia ($P \leq 0,05$; Tabela 2; Rys. 1). W grupie ryb ze szwami (SST) tylko jedna ryba straciła nadajnik TT (w drugim tygodniu; retencja 94%), natomiast w grupie ryb z klejem (SKT) nie odnotowano straty TT przez cały czas trwania eksperymentu (retencja 100%) (Tabela 11).

Tabela 11. Straty i retencja nadajników TT u sandacza (wariant I – grupa kontrolna (SSK) i grupa z ranami szytymi (SST) oraz wariant II – grupa kontrolna (SKK) i grupa z ranami klejonymi (SKT)) w kolejnych dniach podchowu (d0 – dzień implantacji TT, d7, d14, d21, d28, d35 odpowiednio: 7, 14, 21, 28, 35 dzień po implantacji TT) (n = 18)

Wskaźnik dzień podchowu	Wariant I		Wariant II	
	grupa SSK	grupa SST	grupa SKK	grupa SKT
Straty TT (szt. (%))				
d0-d7	-	0	-	0
d7-d14	-	1 (5,6)	-	0
d14-d21	-	0	-	0
d21-d28	-	0	-	0
d28-d35	-	0	-	0
d0-d35	-	1 (5,6)	-	0
Retencja TT (szt. (%))				
d0-d35	-	17 (94,4)	-	18 (100,0)

Rany poimplantacyjne szybciej goiły się w grupie ryb SKT, u których do ich zamknięcia wykorzystano klej. Po pierwszym tygodniu podchowu, od momentu implantacji TT, u większości ryb z tej grupy ranga kryterium oceny makroskopowego wyglądu miejsca nacięcia została oceniona na 3 ($P \leq 0,05$; Tabela 2; Rys. 1). Natomiast w grupie ryb ze szwami (SST), w tym samym czasie, nacięciom przyznano średnio rangę na poziomie 5 i były one otwarte w ponad 50% przypadków. Po drugim tygodniu podchowu różnica w tempie gojenia się ran zmniejszyła się, nadal jednak była istotna statystycznie. W tym czasie u sandaczy z grupy SKT ranga ta oscylowała między 1 a 2, a w grupie SST między 2 a 3 ($P \leq 0,05$; Tabela 2; Rys. 1). Po trzecim i czwartym tygodniu różnica między dwoma grupami znakowanych sandaczy nie była już istotna statystycznie. Po piątym tygodniu rany u ryb z grupy SKT osiągnęły rangę 0, a w grupie SST utrzymały się na poziomie 1 ($P \leq 0,05$; Rys. 1).

U sandacza, w grupach ryb, którym rany poimplantacyjne zamykano klejem, po pierwszym tygodniu stwierdzono mniejszą liczbę osobników z ranami

zaczerwienionymi (grupa SKT – 7 osob., grupa SST – 11 osob.) i wykazującymi wyraźne cechy stanu zapalnego (grupa SKT – 4 osob., grupa SST – 7 osob.). Ponadto u 7 ryb z tej grupy (SKT) występowały rany czyste, gojące się przez rychłozrost (grupa SST – 0 ryb). Różnice te, jednak nie były istotne statystycznie ($P > 0,05$; Tabela 2; Rys. 1). W przypadku osobników z grupy SKT brak stanów zapalnych zaobserwowano już po 4 tygodniu po implantacji TT, a brak zaczerwienienia po 5 tygodniu. Natomiast u niektórych osobników z grupy SST zaczerwienienie (1 ryba) i stan zapalny (2 ryby) były obecne do końca badań. Jednak w przypadku powyższych różnic międzygrupowych, nie odnotowano istotności statystycznej ($P > 0,05$; Rys. 1). Należy podkreślić, że u badanych ryb, bez względu na sposób zaopatrzenia rany, nie stwierdzono infekcji rany, czy też martwicy tkanek.

W doświadczeniu IV (okoń) istotne statystycznie różnice stwierdzone w przypadku retencji szwów (grupa OST) albo kleju (grupa OKT) występowały do trzeciego tygodnia badań ($P \leq 0,05$; Tabela 2; Rys. 1). W grupie OST szwy były tracone równomiernie przez cały czas badań. Natomiast w grupie OKT w większości przypadków złuszczenie kleju nastąpiło już w pierwszym tygodniu po implantacji nadajników TT. Z utratą szwów i kleju bezpośrednio skorelowane było usuwanie nadajników TT. Podczas trwania doświadczenia w grupie OST nadajnik TT utraciło 6 okoni, głównie w 3-5 tygodniu (33,3% poznakowanych ryb). Natomiast w grupie OKT nadajnik TT został zgubiony przez 14 osobników (77,8%), w 2-4 tygodniu eksperymentu II (Tabela 12).

W przypadku obserwacji tempa gojenia się ran u okonia tylko w drugim tygodniu stwierdzono międzygrupowe różnice istotne statystycznie ($P \leq 0,05$; Tabela 2; Rys. 1). W grupie OST odnotowano bowiem znaczny postęp gojenia się z poziomu rangi 5 do rangi 2. Natomiast u ryb z grupy OKT po drugim tygodniu zaobserwowano niewielki postęp z poziomu 5 do poziomu pomiędzy 5 a 4 rangą. Po trzecim tygodniu od implantacji TT u obu grup znakowanego okonia stwierdzono bardzo zbliżony stan ran, a tempo ich gojenia w obu przypadkach oscylowało około rangi 2 ($P > 0,05$; Tabela 2; Rys. 1). Brak istotnych statystycznie różnic obserwowano już do końca trwania badań, a obie grupy po 6 tygodniu obserwacji wykazywały rangę 1 ($P > 0,05$; Tabela 2; Rys. 1).

W obu grupach okonia odsetek osobników z zaczerwienieniami w miejscu implantacji TT był zbliżony ($P > 0,05$; Tabela 2; Rys. 1). Najwięcej osobników z takimi symptomami stwierdzono po pierwszym tygodniu badań (grupa OST – 66,7%, grupa

OKT – 61,1%). W kolejnych tygodniach liczba ryb z tego typu zmianami zmniejszała się. Po 6 tygodniu, w obu grupach, odnotowano tylko po jednym okoniem z takimi

Tabela 12. Straty i retencja nadajników TT u okonia (wariant I – grupa kontrolna (OSK) i grupa z ranami szytymi (OST) oraz wariant II – grupa kontrolna (OKK) i grupa z ranami klejonymi (OKT)) w kolejnych dniach podchowu (d0 – dzień implantacji TT, d7, d14, d21, d28, d35, d42 odpowiednio: 7, 14, 21, 28, 35, 42 dzień po implantacji TT) (n = 18)

Straty TT	Wariant I		Wariant II	
	grupa OSK	grupa OST	grupa OKK	grupa OKT
Straty TT (szt. (%))				
d0-d7	-	0	-	0
d7-d14	-	0	-	4 (22,2)
d14-d21	-	1 (5,6)	-	7 (38,9)
d21-d28	-	2 (11,1)	-	3 (16,7)
d28-d35	-	1 (5,6)	-	0
d35-d42	-	2 (11,1)	-	0
d0-d42	-	6 (33,3)	-	14 (77,8)
Retencja TT (szt. (%))				
d0-d42	-	12 (66,7)	-	4 (23,5)

symptomami (5,56%). Natomiast wyraźne stany zapalne były obserwowane tylko i wyłącznie w grupie OKT (klejenie ran) u 3 osobników. W grupie tej w pierwszym tygodniu po pozakowaniu zaobserwowano dwa osobniki z takimi objawami (ustąpiły one już po tygodniu). Natomiast w drugim tygodniu doświadczenia symptomy takie pojawiły się u kolejnego osobnika i utrzymały się do końca badań. Różnice międzygrupowe (grupa OST wobec grupy OKT) przez cały czas badań nie były statystycznie istotne ($P > 0,05$; Tabela 2; Rys. 1).

Wskaźniki kondycyjne

W doświadczeniu III w żadnym z obydwu wariantów nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w analizowanych wskaźnikach wzrostu i kondycji sandacza znakowanego TT i ryb z grup kontrolnych ($P > 0,05$; Tabela 13). Zaobserwowano jednak dużą zmienność osobniczą wartości badanych parametrów, zarówno w grupach kontrolnych, jak i znakowanych. W obu wariantach korzystniejsze wartości FCR odnotowano u sandaczy z grup kontrolnych wobec grup znakowanych TT (wariant I – 30,2%; wariant II – 21,4%), jednak różnice te nie były statystycznie istotne ($P > 0,05$; Tabela 13). Nie notowano śmiertelności ryb.

W doświadczeniu IV w wariancie I (szycie ran) również nie stwierdzono istotnych różnic w analizowanych wskaźnikach hodowlanych (grupa OSK wobec grupy OST). Dotyczyło to zarówno poszczególnych tygodni, jak i całego okresu przetrzymywania ryb w RAS ($P > 0,05$; Tabela 14). W przypadku wariantu II (klejenie ran) po pierwszym tygodniu po implantacji TT ryby z grupy OKT charakteryzowało istotnie niższe tempo wzrostu (DGR, SGR) i wyższy FCR niż w grupie kontrolnej (OKK) ($P \leq 0,05$; Tabela 14). Począwszy od 2 tygodnia wartości tych wskaźników w grupach OKT i OKK były już podobne i taka sytuacja utrzymywała się do końca podchowu. Śmiertelność w trakcie doświadczenia IV odnotowano wyłącznie w wariancie II. W grupach OKT i OKK snęło po jednym osobniku. Straty wystąpiły pod koniec eksperymentu, tj. w 5 tygodniu (grupa OKT) i w 6 tygodniu (grupa OKK) (Tabela 14).

Tabela 13. Wskaźniki podchowu sandacza znakowanego nadajnikami telemetrycznymi (TT) (wariant I – grupa kontrolna (SSK) i grupa z ranami szytymi (SST) oraz wariant II – grupa kontrolna (SKK) i grupa z ranami klejonymi (SKT)) w kolejnych dniach podchowu (d0 – dzień implantacji TT, d7, d14, d21, d28, d35 odpowiednio: 7, 14, 21, 28, 35 dzień po implantacji TT)

Wskaźnik dzień podchowu	Wariant I		Wariant II	
	grupa SSK	grupa SST	grupa SKK	grupa SKT
Długość ciała (cm)				
d0	16,89 ($\pm 0,52$)	17,13 ($\pm 0,50$)	19,57 ($\pm 0,73$)	19,77 ($\pm 0,44$)
d35	19,94 ($\pm 1,02$)	19,57 ($\pm 1,37$)	21,54 ($\pm 1,50$)	21,29 ($\pm 1,59$)
Masa ciała (g)				
d0	59,37 ($\pm 3,79$)	60,19 ($\pm 5,29$)	86,81 ($\pm 6,63$)	86,99 ($\pm 6,41$)
d7	66,97 ($\pm 5,52$)	64,61 ($\pm 8,07$)	93,91 ($\pm 10,56$)	91,72 ($\pm 11,28$)
d14	74,12 ($\pm 8,48$)	69,57 ($\pm 12,15$)	100,21 ($\pm 15,01$)	96,61 ($\pm 16,83$)
d21	82,69 ($\pm 9,13$)	75,40 ($\pm 15,83$)	107,04 ($\pm 20,06$)	101,04 ($\pm 22,70$)
d28	91,76 ($\pm 11,58$)	83,28 ($\pm 20,42$)	111,89 ($\pm 25,17$)	105,46 ($\pm 27,76$)
d35	100,19 ($\pm 15,48$)	88,30 ($\pm 24,50$)	118,44 ($\pm 30,27$)	110,95 ($\pm 34,00$)
DGR (g d ⁻¹)				
d0-d7	1,09 ($\pm 0,34$)	0,63 ($\pm 0,67$)	1,01 ($\pm 0,87$)	0,67 ($\pm 0,98$)
d7-d14	1,02 ($\pm 0,58$)	0,71 ($\pm 0,70$)	0,90 ($\pm 0,80$)	0,70 ($\pm 0,94$)
d14-d21	1,23 ($\pm 0,44$)	0,83 ($\pm 0,67$)	0,98 ($\pm 0,84$)	0,63 ($\pm 0,88$)
d21-d28	1,30 ($\pm 0,43$)	1,13 ($\pm 1,35$)	0,69 ($\pm 0,95$)	0,63 ($\pm 0,82$)
d28-d35	1,20 ($\pm 0,64$)	0,72 ($\pm 0,65$)	0,93 ($\pm 1,00$)	0,78 ($\pm 0,98$)
d0-d35	1,17 ($\pm 0,37$)	0,80 ($\pm 0,62$)	0,90 ($\pm 0,79$)	0,68 ($\pm 0,89$)
SGR (% d ⁻¹)				
d0-d7	1,70 ($\pm 0,48$)	0,96 ($\pm 1,01$)	1,07 ($\pm 0,94$)	0,69 ($\pm 1,04$)
d7-d14	1,40 ($\pm 0,84$)	0,95 ($\pm 0,97$)	0,85 ($\pm 0,81$)	0,64 ($\pm 0,92$)
d14-d21	1,57 ($\pm 0,66$)	1,05 ($\pm 0,86$)	0,84 ($\pm 0,74$)	0,50 ($\pm 0,78$)
d21-d28	1,46 ($\pm 0,40$)	1,28 ($\pm 1,79$)	0,51 ($\pm 0,81$)	0,47 ($\pm 0,73$)
d28-d35	1,19 ($\pm 0,63$)	0,70 ($\pm 0,69$)	0,68 ($\pm 0,85$)	0,54 ($\pm 0,78$)
d0-d35	1,46 ($\pm 0,38$)	0,99 ($\pm 0,75$)	0,79 ($\pm 0,73$)	0,57 ($\pm 0,81$)
F (-)				
d0	1,23 ($\pm 0,09$)	1,20 ($\pm 0,09$)	1,16 ($\pm 0,09$)	1,12 ($\pm 0,06$)
d7	1,25 ($\pm 0,08$)	1,18 ($\pm 0,09$)	1,15 ($\pm 0,10$)	1,13 ($\pm 0,09$)
d14	1,25 ($\pm 0,09$)	1,18 ($\pm 0,10$)	1,18 ($\pm 0,11$)	1,13 ($\pm 0,10$)
d21	1,26 ($\pm 0,08$)	1,18 ($\pm 0,12$)	1,17 ($\pm 0,11$)	1,13 ($\pm 0,11$)
d28	1,26 ($\pm 0,09$)	1,21 ($\pm 0,22$)	1,15 ($\pm 0,11$)	1,12 ($\pm 0,13$)
d35	1,25 ($\pm 0,09$)	1,15 ($\pm 0,13$)	1,16 ($\pm 0,12$)	1,11 ($\pm 0,13$)
FCR (-)				
d0-d7	0,70 ($\pm 0,03$)	1,25 ($\pm 0,18$)	1,16 ($\pm 0,33$)	1,72 ($\pm 0,45$)
d7-d14	0,93 ($\pm 0,16$)	1,30 ($\pm 0,12$)	1,55 ($\pm 0,5$)	2,04 ($\pm 0,75$)
d14-d21	0,86 ($\pm 0,13$)	1,21 ($\pm 0,15$)	1,55 ($\pm 0,51$)	2,62 ($\pm 1,47$)
d21-d28	0,89 ($\pm 0,04$)	1,13 ($\pm 0,51$)	2,89 ($\pm 1,93$)	2,33 ($\pm 0,46$)
d28-d35	1,08 ($\pm 0,11$)	1,76 ($\pm 0,53$)	1,91 ($\pm 0,92$)	1,95 ($\pm 0,44$)
d0-d35	0,88 ($\pm 0,04$)	1,26 ($\pm 0,25$)	1,62 ($\pm 0,49$)	2,06 ($\pm 0,58$)
Śmiertelność (%)				
d0-d35	0	0	0	0

Objaśnienia:

DGR: dzienny przyrost masy ciała, SGR: względny przyrost masy ciała, F: wskaźnik kondycyjny Fultona, FCR: współczynnik pokarmowy paszy. Wartość średnia (\pm SD) (n = 18). Nie stwierdzono istotnych różnic międzygrupowych (P > 0,05).

Tabela 14. Wskaźniki podchowu okonia znakowanego nadajnikami telemetrycznymi (TT) (wariant I – grupa kontrolna (OSK) i grupa z ranami szytymi (OST) oraz wariant II – grupa kontrolna (OKK) i grupa z ranami klejonymi (OKT)) w kolejnych dniach podchowu (d0 – dzień implantacji TT, d7, d14, d21, d28, d35, d42 odpowiednio: 7, 14, 21, 28, 35, 42 dzień po implantacji TT)

Wskaźnik dzień podchowu	Wariant I		Wariant II	
	grupa OSK	grupa OST	grupa OKK	grupa OKT
Długość ciała (cm)				
d0	16,02 (± 0,69)	16,28 (± 0,68)	15,88 (± 0,41)	15,58 (± 0,51)
d42	17,19 (± 0,79)	17,21 (± 0,83)	17,15 (± 0,61)	16,61 (± 0,44)
Masa ciała (g)				
d0	80,92 (± 10,63)	77,70 (± 10,02)	76,79 (± 6,83)	72,44 (± 6,26)
d7	83,49 (± 11,88)	78,68 (± 10,75)	79,56 (± 6,98)	72,81 (± 5,94)
d14	86,86 (± 12,54)	81,77 (± 11,76)	82,72 (± 7,37)	75,92 (± 6,75)
d21	90,26 (± 12,99)	84,98 (± 12,90)	85,13 (± 8,22)	77,72 (± 6,96)
d28	93,76 (± 14,25)	88,52 (± 14,19)	87,20 (± 8,95)	80,33 (± 6,78)
d35	97,35 (± 15,61)	91,68 (± 15,17)	90,46 (± 9,59)	82,96 (± 7,39)
d42	100,97 (± 16,46)	95,22 (± 16,59)	93,54 (± 11,50)	85,37 (± 7,63)
DGR (g d⁻¹)				
d0-d7	0,37 (± 0,37)	0,14 (± 0,24)	0,39 (± 0,20) ^b	0,05 (± 0,27) ^a
d7-d14	0,48 (± 0,28)	0,44 (± 0,30)	0,45 (± 0,18)	0,44 (± 0,27)
d14-d21	0,49 (± 0,25)	0,46 (± 0,24)	0,34 (± 0,18)	0,26 (± 0,21)
d21-d28	0,50 (± 0,26)	0,51 (± 0,26)	0,30 (± 0,19)	0,37 (± 0,20)
d28-d35	0,51 (± 0,29)	0,45 (± 0,27)	0,47 (± 0,23)	0,39 (± 0,19)
d35-d42	0,52 (± 0,43)	0,51 (± 0,27)	0,38 (± 0,38)	0,34 (± 0,32)
d0-d42	0,48 (± 0,25)	0,42 (± 0,23)	0,39 (± 0,19)	0,30 (± 0,14)
SGR (% d⁻¹)				
d0-d7	0,43 (± 0,44)	0,16 (± 0,29)	0,51 (± 0,24) ^b	0,08 (± 0,37) ^a
d7-d14	0,56 (± 0,33)	0,54 (± 0,36)	0,56 (± 0,20)	0,59 (± 0,35)
d14-d21	0,55 (± 0,32)	0,53 (± 0,26)	0,40 (± 0,19)	0,33 (± 0,27)
d21-d28	0,53 (± 0,26)	0,56 (± 0,26)	0,34 (± 0,20)	0,48 (± 0,25)
d28-d35	0,52 (± 0,28)	0,49 (± 0,29)	0,52 (± 0,24)	0,48 (± 0,22)
d35-d42	0,51 (± 0,45)	0,52 (± 0,25)	0,38 (± 0,45)	0,41 (± 0,38)
d0-d42	0,51 (± 0,27)	0,47 (± 0,24)	0,45 (± 0,19)	0,39 (± 0,17)
F (-)				
d0	1,96 (± 0,12)	1,80 (± 0,11)	1,91 (± 0,10)	1,92 (± 0,14)
d7	1,92 (± 0,12)	1,80 (± 0,12)	1,91 (± 0,07)	1,91 (± 0,15)
d14	1,95 (± 0,12)	1,86 (± 0,11)	1,92 (± 0,07)	1,89 (± 0,16)
d21	1,91 (± 0,14)	1,84 (± 0,11)	1,77 (± 0,08)	1,76 (± 0,12)
d28	1,93 (± 0,13)	1,84 (± 0,12)	1,86 (± 0,08)	1,89 (± 0,14)
d35	1,94 (± 0,15)	1,88 (± 0,13)	1,87 (± 0,09)	1,88 (± 0,12)
d42	1,97 (± 0,14)	1,85 (± 0,13)	1,85 (± 0,09)	1,86 (± 0,13)
FCR (-)				
d0-d7	4,59 (± 3,84)	12,64 (± 8,65)	2,84 (± 0,69) ^a	16,56 (± 13,57) ^b
d7-d14	2,70 (± 0,65)	3,01 (± 1,34)	2,68 (± 0,29)	2,50 (± 0,30)
d14-d21	2,73 (± 0,44)	2,88 (± 0,90)	4,15 (± 1,88)	5,02 (± 2,22)
d21-d28	2,72 (± 0,23)	2,73 (± 0,67)	5,11 (± 2,70)	4,08 (± 2,76)
d28-d35	2,75 (± 0,22)	2,98 (± 0,34)	2,80 (± 0,19)	3,11 (± 0,36)
d35-d42	3,12 (± 1,21)	2,84 (± 0,62)	3,65 (± 1,37)	3,57 (± 1,13)
d0-d42	2,82 (± 0,51)	3,13 (± 0,70)	3,28 (± 0,80)	3,73 (± 0,58)
Śmiertelność (%)				
d0-d42	0	0	5,6	5,6

Wartość średnia (± SD) (n = 18). Grupy oznaczone różnymi indeksami literowymi różnią się istotnie statystycznie (P ≤ 0,05). Objaśnienia parametrów – patrz Tabela 13.

Dyskusja

Wpływ Propiscinu na stan zdrowotny i fizjologiczny

Układ krwionośny jest m.in. odpowiedzialny za utrzymanie homeostazy organizmu i dlatego najszybciej reaguje (parametry morfotyczne krwi) na zmiany warunków środowiskowych, w których znajduje się organizm (Clauss i in. 2008). W niniejszych badaniach kąpiel w wodnym roztworze Propiscinu, w zależności od stężenia anestetyku oraz czasu kąpieli, w odmienny sposób wpływała na podstawowe parametry hematologiczne (WBC, RBC, HGB i HCT) sandacza i okonia. U wszystkich grup sandacza, bezpośrednio po zakończeniu kąpieli, obserwowano leukocytozę o różnym stopniu nasilenia. Leukocytoza jest częstą odpowiedzią organizmu na stres po wprowadzeniu organizmu w stan znieczulenia ogólnego, proces ten obserwuje się również często w wyniku zwiększenia stężenia/aktywności adrenaliny w organizmie (Clauss i in. 2008). Można przypuszczać, że najwyższy poziom stresu wystąpił w grupach poddanych dłuższej kąpieli (10 min). Wzrosty wartości WBC były bowiem w tym przypadku najwyższe. U okonia również obserwowano zwiększanie się wartości WBC wraz ze wzrostem stężenia anestetyku oraz wydłużeniem czasu kąpieli, ale różnice te nie wykazywały jednak istotności statystycznej. Fakt ten wskazuje na specyfikę gatunkową, nawet wśród organizmów blisko spokrewnionych filogenetycznie. Zjawiskiem często występującym w wyniku ekspozycji na anestetyki jest hipoksemia, czyli obniżenie ciśnienia parcjalnego tlenu we krwi (Witeska i in. 2015). Niedotlenienie w tym przypadku może być efektem spowolnionych ruchów pokryw skrzelowych i/lub zmniejszenia częstości akcji serca (Mourad 2000). Podczas kąpieli sandacza można było zauważyć, że wraz ze wzrostem dawki anestetyku oraz czasu ekspozycji zwiększały się wartości innych podstawowych parametrów morfotycznych krwi (RBC, HGB, HCT). Przyczyn tego zjawiska można upatrywać w dążeniu organizmu do zrekompensowania deficytu tlenowego, poprzez uwolnienie czerwonych krwinek z narządów krwiotwórczych i ich rezerwuarów (np. nerka głowowa (przednia)) do układu krwionośnego (Phuong i in. 2017). Krótkotrwałej erytrocytozie często towarzyszy wzrost wartości hemoglobiny i hematokrytu, co może wynikać nie tylko z podwyższenia poziomu wskaźnika RBC, ale również zaburzeń w gospodarce wodno-elektrolitowej (lekkiego odwodnienia) pod wpływem stresu chemicznego (Phuong i in. 2017). Z kolei, w przypadku okonia zmiany parametrów hematologicznych (oprócz HCT w grupie 1 ml l⁻¹/10 min) były na tyle niewielkie, że

bezpośrednio po zakończeniu kąpieli w anestetyku, podobnie do WBC, nie wykazano istotnego wpływu na ich wielkość. W innych badaniach prowadzonych na sandaczu (1,5 ml l⁻¹/10 min; Kristan i in. 2012) i cercie (*Vimba vimba*) (1 ml l⁻¹/10 min; Lepic i in. 2014) bezpośrednio po kąpieli nie stwierdzono istotnego wpływu Propiscinu na podstawowe parametry hematologiczne tych gatunków. W niniejszych badaniach u obu gatunków po 24 h wartości wszystkich parametrów hematologicznych, w przypadku których stwierdzono różnice istotne statystycznie (0 h), powróciły do wartości odnotowanych w grupie kontrolnej (oprócz WBC u sandacza w grupie 1 ml l⁻¹/2 min). W innych badaniach u sandacza (1,5 ml l⁻¹/10 min; Kristan i in. 2012) i certy (1 ml l⁻¹/10 min; Lepic i in. 2014) podobnie jak w niniejszych badaniach (oprócz WBC u sandacza w grupie 1 ml l⁻¹/2 min) po 24 h nie stwierdzono istotnych różnic w wartościach WBC, RBC, HGB i HCT.

Istotny wzrost poziomu glukozy zarówno u sandacza, jak i u okonia świadczyć może o reakcji stresowej, będącej np. efektem ekspozycji na środek znieczulający (Haluzova i in. 2010). W przypadku sandacza zjawisko to obserwowano tylko w grupach poddanych dłuższemu, 10 min kąpielom. Natomiast u okonia istotny wzrost tego parametru odnotowano tylko w grupach kąpanych krócej (3 min). Wystąpienie reakcji stresowej u okonia eksponowanego na działanie anestetyku potwierdza też istotnie podwyższony poziom mleczanów. W innych badaniach, prowadzonych na sandaczu (zbliżone warunki kąpieli: 1,5 ml l⁻¹/10 min) bezpośrednio po kąpieli, nie odnotowano istotnego wzrostu glukozy w osoczu krwi obwodowej (Kristan i in. 2012). Różnic nie stwierdzono również w przypadku pstrąga tęczowego (1 ml l⁻¹/10 min; Velisek i in. 2011). Odminną sytuację zaobserwowano natomiast u certy (1 ml l⁻¹/10 min), w przypadku której istotne różnice w poziomie stężenia glukozy obserwowane bezpośrednio po zakończeniu kąpieli w wodnym roztworze Propiscinu utrzymywały się nawet 24 h po zakończeniu ekspozycji na ten środek znieczulający (Lepic i in. 2014). W niniejszych badaniach różnice stwierdzone u obu gatunków w poziomie glukozy i mleczanów w osoczu krwi zaraz po kąpieli, po 24 h powróciły do wartości porównywalnych z grupą kontrolną. U certy, w przeciwieństwie do okonia (niniejsze badania), nie obserwowano istotnych zmian w stężeniu mleczanów w osoczu krwi obwodowej (Lepic i in. 2014). Podaż tlenu do komórek podczas znieczulania ogólnego u różnych gatunków może przebiegać w odmienny sposób, w wyniku czego u niektórych gatunków, u których dostarczanie tlenu do komórek zostaje szybciej spowolnione/zahamowane istnieje ryzyko niedotlenienia tkanek i zastąpienia

oddychania tlenowego oddychaniem beztlenowym. Z tego powodu u tych gatunków następować może wzrost stężenia mleczanów w osoczu krwi prowadzący niekiedy nawet do kwasicy mleczanowej (Wood i in. 1977). Obserwowany u sandacza istotny wzrost stężenia białka całkowitego bezpośrednio po zakończeniu kąpieli wszystkich badanych grup ryb był związany przede wszystkim ze zmianami zawartości globulin w osoczu krwi obwodowej tego gatunku. U okonia, w przeciwieństwie do sandacza, podobnych zmian w poziomie stężenia białka całkowitego oraz globulin nie obserwowano. Badania prowadzone przez Kristan i in. (2012) na sandaczu ($1,5 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$) oraz Velisek i in. (2009) na okoniu ($1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$) również nie wykazały istotnego wpływu tego anestetyku zarówno na poziom białka całkowitego, jak i globulin w osoczu krwi obwodowej. Różnic istotnych statystycznie nie stwierdzono również u certy ($1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$; Lepic i in. 2014) oraz pstrąga tęczowego ($1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$; Velisek i in. 2011). Kreatynina jest ważnym wskaźnikiem pracy nerek. Związek ten jest wytwarzany przede wszystkim w mięśniach i wydalany z ustroju właśnie przez nerki. Podwyższone wartości tego parametru odnotowane u dwóch grup sandacza mogą najprawdopodobniej świadczyć o zaburzeniach w pracy tego narządu, na co może również wskazywać podwyższony poziom amoniaku u tego gatunku (Ajeniyi i Solomon 2014). W przypadku badań na okoniu (niniejsze badania) nie stwierdzono zmian w poziomie tego parametru. Istotnie podwyższone wartości amoniaku u wszystkich grup sandacza, stwierdzone bezpośrednio po zakończeniu kąpieli (0 h) oraz u jednej grupy okonia ($2 \text{ ml l}^{-1}/3 \text{ min}$) świadczą najprawdopodobniej o wzmożonym katabolizmie białek lub o zaburzeniach w ekskrecji tego związku azotowego przez organizm (Svoboda 2001). Natomiast Kristan i in. (2012) u mniejszych osobników sandacza (średnia masa ciała – 71,5 g), bezpośrednio po zakończeniu kąpieli w Propiscinie ($1,5 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$), odnotowali niewielki spadek poziomu amoniaku, a po 24 h od zakończenia kąpieli obniżył się on nawet ponad trzykrotnie, w porównaniu do grupy kontrolnej. Ta odmienna sytuacja w porównaniu do niniejszych badań może najprawdopodobniej wynikać z różnej wielkości materiału badawczego i/lub warunków środowiskowych panujących podczas przeprowadzania kąpieli. Wydaje się, że fluktuacje wartości stężenia tego parametru w osoczu krwi obwodowej, będące wynikiem ekspozycji na wodny roztwór Propiscinu, są też w dużej mierze zależne od gatunku. Na przykład u certy (m.c. 339,2 g; $1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$) po 24 h od zakończenia kąpieli odnotowywano istotny wzrost wartości amoniaku (Lepic i in. 2014).

Wapń i magnez pełnią w organizmie szereg ważnych funkcji. Magnez na przykład bierze udział w transporcie glukozy, wytwarzaniu energii, wpływa na przewodzenie impulsów nerwowych oraz pracę (skurcz-rozkurcz) mięśni. Zmiany stężeń tych jonów w osoczu krwi obwodowej często mogą wynikać z reakcji stresowej organizmu (Bijvelds i in. 1998). W przypadku sandacza we wszystkich grupach, od których krew pobierano bezpośrednio po zakończeniu kąpieli stwierdzono istotnie podwyższone wartości stężeń tych dwóch jonów. U okonia natomiast istotny wzrost koncentracji wapnia obserwowano tylko u jednej grupy ryb ($1 \text{ ml l}^{-1}/3 \text{ min}$). Z kolei w przypadku magnezu u okonia obserwowano przeciwną sytuację do zaobserwowanej u sandacza. U obu grup poddanych kąpielom w mniejszym stężeniu (1 ml l^{-1}), po 24 h od zakończenia kąpieli, stwierdzono istotny spadek zawartości tego pierwiastka. W innych badaniach, tj. prowadzonych na okoniu ($1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$; Velisek i in. 2009), sandaczu ($1,5 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$; Kristan i in. 2012), pstrągu tęczowym ($1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$; Velisek i in. 2011) i cercie ($1 \text{ ml l}^{-1}/10 \text{ min}$; Lepic i in. 2014) nie obserwowano istotnych zmian wartości obu tych jonów.

Wpływ implantacji TT na stan zdrowotny, fizjologiczny i kondycyjny

U sandacza, u którego do zamykania ran po implantacji TT użyto nici chirurgicznych (wariant I) odnotowano obniżenie wartości MCV i MCHC. Spadek wartości tych parametrów może świadczyć o obniżonym poziomie żelaza i zaburzeniach wodno-elektrolitowych, spowodowanych utratą krwi i chronicznym stanem zapalnym ran poimplantacyjnych u ryb z ranami sztytami (Neves i in. 2016). Potwierdzeniem tego mogą być obniżone wartości MCV u okonia w wariacie II (rany klejone), u którego czas gojenia się ran poimplantacyjnych również był dłuższy w porównaniu do wariantu I (rany szyte). Dłuższy czas gojenia się ran poimplantacyjnych u sandacza z wariantu I wpłynął również na wartości wskaźników będących markerami funkcjonowania nerek i przemiany materii, tj. stężenia kreatyniny i amoniaku w osoczu krwi (Ajeni i Solomon 2014). Zmiany wartości ww. wskaźników świadczą o intensywnych procesach katabolicznych białek, co związane jest ze zwiększonym zapotrzebowaniem na energię w przebiegu stanu zapalnego i gojenia się ran (Jepsen i in. 2008). Należy podkreślić, że ww. różnice obserwowane w wariacie I (zamykanie ran szwami) nie zostały odnotowane u sandacza w wariacie II, u których rany poimplantacyjne zamykane klejem tkankowym goiły się szybciej. Co istotne, u okonia nie obserwowano podobnych zmian, nawet w wariacie II, u którego

rany goiły się dłużej niż w wariancie I. Aktywność fosfatazy alkalicznej jest bardzo pomocnym markerem stanu zdrowotnego organizmu (Gora i in. 2018). Obniżony poziom aktywności tego enzymu, w porównaniu do grup kontrolnych, w obu grupach sandacza (wariant I i wariant II) oraz jednej grupie okonia (wariant I) wskazywać może na zakłócenia w pracy wątroby związane z syntezą czynników odpowiedzialnych za hemostazę, wzmożonym katabolizmem białek i gojeniem się ran. Spadek aktywności ALP może bezpośrednio wynikać ze spowolnienia tempa syntezy glikogenu, niedożywienia czy wycieńczenia organizmu (Shaffi 1979).

Zaletą wykorzystania kleju chirurgicznego do zamykania ran związanych z implantacją TT jest niewątpliwie krótszy czas trwania zabiegu implantacji. W niniejszych badaniach, zarówno w przypadku okonia, jak i sandacza średni czas implantacji TT z wykorzystaniem kleju był bowiem o połowę krótszy niż w przypadku stosowania nici chirurgicznych. Zbyt długi czas zabiegu znakowania ryb może powodować różne, niepożądane skutki uboczne, takie jak zwiększone narażenie na stres, wydłużenie czasu wybudzenia po zabiegu anestezji, a ostatecznie może doprowadzić nawet do śnięć (Neely i in. 2009). Odnotować jednak należy, że również czas przeprowadzania zabiegu implantacji TT i zamykania rany nićmi chirurgicznymi w niniejszych badaniach mieścił się w zakresie rekomendowanym w literaturze dla tego typu zabiegów (Sandstrom i in. 2013).

Zakłada się, że znakowanie ryb, w tym implantacja nadajników TT, nie powinna wpływać w istotny sposób na behavior, kondycję (wzrost) i procesy fizjologiczne ryb (Bridger i Booth 2003). U sandacza, pomimo iż w przypadku obu wariantów odnotowano, w porównaniu do grup kontrolnych, spowolnienie tempa wzrostu, to jednak były to zmiany nieistotne statystycznie. Podobne obserwacje poczyniono w przypadku okonia. Po pierwszym tygodniu, po implantacji TT, u obu grup ryb znakowanych TT (wariant I i wariant II) w porównaniu do grup kontrolnych, odnotowano niższe wartości przyrostów biomasy obsad. W wariancie II zaobserwowano nawet istotny spadek wartości tego parametru. Jednak już po 14 dniach od zabiegu implantacji TT u okonia i do końca trwania eksperymentu/podchowu różnice w tempie wzrostu ryb znakowanych i nieznakowanych były już nieistotne. Niższe przyrosty masy ciała ryb, w krótkim czasie po ich znakowaniu (7-14 dni), stwierdzono również w innych badaniach prowadzonych na rybach okoniowatych, w których używano np. pasywnych zintegrowanych transponderów (PIT; Baras i in. 2000; Zakęś i Hopko 2013). Podobną sytuację zauważono również u młodocianej

czawyczy (*Oncorhynchus tshawytscha*) (m.c. 50,5 g) znakowanej nadajnikami TT (Ammann i in. 2013). Mniejsze przyrosty masy ciała w grupie czawyczy znakowanej występowały do 35 dnia badań. Jednak pomimo mniejszych wartości tego parametru w pierwszej fazie doświadczenia, podobnie jak w przypadku niniejszych badań, końcowe wartości masy ciała ryb znakowanych były porównywalne do odnotowanych w kontrolnej grupie ryb (Ammann i in. 2013). Wyniki niniejszych badań prowadzonych na okoniu mogą też wskazywać, że o stopniu reakcji danego gatunku na implantację TT może decydować również procedura/metoda zamykania ran poimplantacyjnych. W przypadku tego gatunku istotne obniżenie wartości wskaźników wzrostu w pierwszym tygodniu po implantacji PIT odnotowano tylko w wariancie II (rany klejone). Uwagę należy zwrócić również na prawie 6-krotnie wyższy, w porównaniu z grupą kontrolną, współczynnik efektywności wykorzystania paszy (FCR) w tej grupie w pierwszym tygodniu podchowu. Świadczy to niewątpliwie o mniej efektywnym pobieraniu/wykorzystaniu paszy przez ryby w tej grupie w pierwszym tygodniu doświadczenia. Podobne wyniki otrzymano u młodocianego labraksa (*Dicentrarchus labrax*) (m.c. 173 g) znakowanego dootrzewnowo nadajnikami TT. W pierwszych tygodniach po implantacji TT odnotowano wyższe, mniej korzystne wartości FCR, które obniżyły się istotnie dopiero po 3 tygodniach po poznakowaniu (Anras i in. 2003). Symptomatyczne, że w niniejszych badaniach nie stwierdzono zjawiska istotnego obniżenia wskaźników wzrostu (DGR, SGR) i FCR u sandacza. Wynikać z tego może, że reakcję na zabieg implantacji TT charakteryzuje specyfika gatunkowa.

U obu gatunków czas utrzymywania się zarówno szwów, jak i kleju był stosunkowo krótki. U większości osobników ubytki kleju i szwów obserwowano już w pierwszym tygodniu po implantacji TT. Najdłużej utrzymywały się szwy u okonia, bowiem większość osobników z wariantu I traciła szwy w 2-3 tygodniu po implantacji TT. Prawidłowy proces gojenia się rany po implantacji nadajników TT przewiduje utrzymywanie się szwów/kleju na ranie do momentu połączenia się obu jej brzegów tkanką łączną (Caputo i in. 2009). Z kolei szwy/klej utrzymujące się zbyt długo mogą wydłużyć proces gojenia się rany, a nawet mogą być źródłem różnego rodzaju komplikacji, m.in. stanu zapalnego, infekcji czy nawet w skrajnych przypadkach martwicy (Caputo i in. 2009). Ponieważ u sandacza w wariancie II klej łączący brzegi ran poimplantacyjnych ulegał złuszczeniu szybciej, dalszy proces gojenia się ran przebiegał bez zakłóceń. Całkowicie zamknięte rany, ale jeszcze niezagojone u wszystkich osobników z tej grupy obserwowano już po trzech tygodniach po

implantacji TT. Natomiast całkowicie zagojone rany obserwowano w piątym tygodniu doświadczenia. U sandacza w wariancie I szwy, które utrzymywały się na ciele ryby nawet po połączeniu się obu brzegów rany tkanką łączną, w czwartym tygodniu po implantacji TT, hamowały/wydłużały dalszy proces gojenia się ran. Przeciwną sytuację obserwowano u okonia. Klej łączący oba brzegi rany poimplantacyjnej odpadał przed ich połączeniem się tkanką, co wydłużało proces gojenia się ran oraz skutkowało licznymi stratami nadajników TT. Szwy u okonia w wariancie I pomimo tego, że utrzymywały się na ranach dłużej (do 3 tygodnia podchowu) niż klej w wariancie II, były usuwane z ran podobnie jak klej, przed trwałym połączeniem się brzegów ran. Wynikało to m.in. z interakcji międzyosobniczych, chwytania i pociągania końcówek szwów przez inne osobniki, które traktowały je najprawdopodobniej jak potencjalny pokarm. Podkreślić należy, że takiego zachowania nie obserwowano u sandacza. Ponadto z obserwacji prowadzonych w basenach, w których przetrzymywano ryby wynikało, że okonie atakowały również anteny nadajników TT u innych ryb. Skutkowało to przemieszczaniem się TT w jamie ciała, wolniejszym gojeniem się lub rozchodzeniem się brzegów ran poimplantacyjnych i w skrajnych przypadkach utratą nadajników. U węgorza (*Anguilla anguilla*) (długość ciała Lt 56,2-78,0 cm) obserwowano podobny proces gojenia się ran po implantacji TT do jamy ciała, jak u okonia w niniejszych badaniach (Baras i Jeandrain 1998). Rany w przypadku tego gatunku goiły się szybciej w grupie ryb, u której do zamknięcia miejsca implantacji TT użyto szwów (40 dni – czas od momentu implantacji do całkowitego zagojenia się rany), a nie kleju (52 dni). Jednak z drugiej strony szwy u węgorza, podobnie jak u sandacza w wariancie I były źródłem stanów zapalnych, a ponadto przyczyniły się do wyższej śmiertelności znakowanych ryb (szwy – 60%; klej – 10%, rana bez zamknięcia – 20%). Należy również wspomnieć, że rany goiły się najszybciej u węgorzy, u których rany poimplantacyjne pozostawiono bez zamknięcia (28 dni) (Baras i Jeandrain 1998). W przypadku sandacza lepszą i bezpieczniejszą metodą zamykania ran poimplantacyjnych po znakowaniu nadajnikami TT jest metoda wykorzystująca klej tkankowy. W niniejszych badaniach pozwalała ona na szybsze gojenie się ran i w przeciwieństwie do szwów, klej odpadając zaraz po połączeniu się brzegów rany nie był źródłem stanów zapalnych czy infekcji. Z kolei u okonia pomimo tego, że zarówno szwy, jak i klej pozwalały na zagojenie się ran, były usuwane z organizmu jeszcze przed trwałym połączeniem się obu ich brzegów (głównie poprzez interakcje międzyosobnicze), skutkiem czego była niska retencja nadajników TT w obu

wariantach. Dlatego w przypadku tego gatunku żadna z metod, w formie, w jakiej zostały zastosowane w niniejszych badaniach nie może być rekomendowana do implantacji nadajników TT.

Wnioski

- Wykazano, że zarówno u młodocianego sandacza, jak i okonia indukcja znieczulenia ogólnego za pomocą Propiscinu (etomidat) powoduje jedynie krótkotrwałe zmiany stanu zdrowotnego i fizjologicznego (wskaźniki hematologiczne i biochemiczne). Po 24 h wartości prawie wszystkich z analizowanych parametrów powróciły do wielkości wyjściowych;
- Ustalono, że dynamika zmian wartości analizowanych wskaźników hematologicznych i biochemicznych, obserwowana bezpośrednio po zakończeniu kąpieli w wodnym roztworze anestetyku, u sandacza była większa niż u okonia. Biorąc jednak pod uwagę, że były to zmiany krótkotrwałe, anestetyk ten można zalecać do stosowania w badaniach ichtologicznych prowadzonych na tych gatunkach;
- Stwierdzono, że dootrzewnowa implantacja nadajników telemetrycznych (TT) u młodocianego sandacza i okonia, bez względu na metodę zamykania ran poimplantacyjnych (szycie i klejenie) nie wywierała istotnego, negatywnego wpływu na stan zdrowotny i fizjologiczny (wskaźniki hematologiczne i biochemiczne) tych gatunków;
- Na podstawie wskaźnika retencji nadajników TT, tempa i przebiegu procesu gojenia się ran wykazano, że u sandacza do zamykania ran poimplantacyjnych można polecać stosowanie kleju tkankowego;
- U młodocianego okonia żadna z testowanych metod zamykania ran poimplantacyjnych nie może być rekomendowana w przypadku stosowania nadajników telemetrycznych z anteną zewnętrzną, głównie z uwagi na ich niską retencję;
- Nie wykazano istotnego wpływu implantacji nadajników TT na stan kondycyjny badanych ryb. Jedynie u okonia stwierdzono krótkotrwałe (około 7 dni po implantacji TT) obniżenie wartości wskaźników wzrostu i efektywności wykorzystania pasz, które jednak zostało zrekompensowane już po kolejnym tygodniu przetrzymywania ryb w RAS;
- Potwierdzono przydatność analiz hematologicznych i biochemicznych w pracach zmierzających do kompleksowej oceny wpływu danej procedury badawczej/hodowlanej na status zdrowotny i dobrostan ryb.

Literatura

- Ajeniyi S.A., Solomon R.J. 2014 – Urea And Creatinine Of *Clarias Gariepinus* In Three Different Commercial Ponds – Nat. Sci. 12: 124-138.
- Alavi S.M.H., Ciereszko A., Hatef A., Krisan J., Dzyuba B., Boryshpolets S., Rodina M., Cosson J., Linhart O. 2015 – Sperm Morphology, Physiology, Motility, and Cryopreservation in Percidae – W: *Biology and culture of percid fishes – principles and practices* (Red.) P. Kestemont, K. Dabrowski, R.C. Summerfelt. Wyd. Springer, Dordrecht, Holandia: 163-191.
- Ammann A.J., Michel C.J., MacFarlane R.B. 2013 – The effects of surgically implanted acoustic transmitters on laboratory growth, survival and tag retention in hatchery yearling Chinook salmon – Environ. Biol. Fish. 96: 135-143.
- Anras M.L.B., Covès D., Dutto G., Laffargue P., Lagardère F. 2003 – Tagging juvenile seabass and sole with telemetry transmitters: medium-term effects on growth – ICES J. Mar. Sci. 60: 1328-1334.
- Baktoft H., Aarestrup K., Berg S., Boel M., Jacobsen L., Jepsen N., Koed A., Svendsen J.C., Skov C. 2012 – Seasonal and diel effects on the activity of northern pike studied by high-resolution positional telemetry – Ecol. Freshw. Fish 21: 386-394.
- Baras E., Jeandrain D. 1998 – Evaluation of surgery procedures for lagging eel *Anguilla anguilla* with telemetry transmitters – Hydrobiologia 371/372: 107-111.
- Baras E., Lagardère J.P. 1995 – Fish telemetry in aquaculture: review and perspectives – Aquacult. Int. 3: 77-102.
- Baras E., Malbrouck Ch., Houbart M., Kestemont P., Mélard Ch. 2000 – The effect of PIT tags on growth and physiology of age-0 cultured Eurasian perch *Perca fluviatilis* of variable size – Aquaculture 185: 159-173.
- Bijvelds M.J., Velden J.A., Kolar Z.I., Flik G. 1998 – Magnesium transport in freshwater teleosts – J. Exp. Biol. 201: 1981-1990.
- Bregnballe J. 2015 – A Guide to Recirculation Aquaculture. An introduction to the new environmentally friendly and highlyproductive closed fish farming systems – FAO and EUROFISH, Kopenhaga, Dania. s. 95.
- Bridger C.J., Booth R.K. 2003 – The effects of biotelemetry transmitter presence and attachment procedures on fish physiology and behavior – Rev. Fish. Sci. 11: 13-34.

- Brinn R.P., Marcon J.L., Gomes D.M., Abreu L.C., Baldisseroto B. 2012 – Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. hystrix*) during transportation in the Amazon region of the Rio Negro – Comp. Biochem. Physiol. A 162: 139-145.
- Caputo M., O'Connor C.M., Hasler C.T., Hanson K.C., Cooke S.J. 2009 – Long-term effects of surgically implanted telemetry tags on the nutritional physiology and condition of wild freshwater fish – Dis. Aquat. Org. 84: 35-41.
- Clauss T.M., Dove A., Arnold J. 2008 – Hematologic disorders of fish – Vet. Clin. Exot. Anim. 11: 445-462.
- Cooke S.J., Hinch S.G., Wikelski M., Andrews R.D., Kuchel L.J., Wolcott T.G., Butler P.J. 2004 – Biotelemetry: a mechanistic approach to ecology – Trends Ecol. Evol. 19: 334-343.
- Cooke S.J., Midwood J.D., Thiem J.D., Klimley P., Lucas M.C., Thorstad E.B., Eiler J., Holbrook C., Ebner B.C. 2013 – Tracking animals in freshwater with electronic tags: past, present and future – Anim. Biotelem. 1: 5.
- Cooke S.J., Woodley C.M., Eppard M.B., Brown R.S., Nielsen J.L. 2011 – Advancing the surgical implantation of electronic tags in fish: a gap analysis and research agenda based on a review of trends in intracoelomic tagging effects studies – Rev. Fish Biol. Fish. 21: 127-151.
- Dacie J.V., Lewis S.M. 2001 – Practical Haematology – W: *Practical Haematology* (Red.) S.M. Lewis, B.J. Bain, I. Bates. 9th Edition, Wyd. Churchill Livingstone, London, Wielka Brytania: 444-451.
- Dalsgaard J., Lund I., Thorarinsdottir R., Drengstig A., Arvonen K., Pedersen P.B. 2013 – Farming different species in RAS in Nordic countries: Current status and future perspectives – Aquacult. Eng. 53: 2-13.
- Deters K.A., Brown R.S., Carter K.M., Boyd J.W., Eppard M.B., Seaburg A.G. 2010 – Performance Assessment of Suture Type, Water Temperature, and Surgeon Skill in Juvenile Chinook Salmon Surgically Implanted with Acoustic Transmitters – Trans. Am. Fish. Soc. 139: 888-899.
- Dudgeon C.L., Pollock K.H., Braccini J.M., Semmens J.M., Barnett A. 2015 – Integrating acoustic telemetry into mark – recapture models to improve the precision of apparent survival and abundance estimates – Oecologia 178: 761-772.

- Falahatkar B., Barton B.A. 2007 – Preliminary Observations of Physiological Responses to 446 Acute Handling and Confinement in Juvenile Beluga (*Huso huso*) – Aquacult. Res. 38: 1786-1789.
- FAO 2018 – The State of World Fisheries and Aquaculture 2018: Meeting the Sustainable Development Goals – UN, New York, s. 210.
- Gora A.H., Sahu N.P., Sahoo S., Rehman S., Ahmed I., Agarwal D. 2018 – Metabolic and haematological responses of Labeo rohita to dietary fucoidan – J. Appl. Anim. Res. 46: 1042-1050.
- Haluzova I., Modra H., Blahova J., Marsalek P., Siroka Z., Groch L., Svobodova Z. 2010 – Effects of subchronic exposure to Spartakus (prochloraz) on common carp *Cyprinus carpio* – Neuroendocrinol. Lett. 31: 105-113.
- Hamáčková J., Sedova M.A., Pjanova S.V., Lepičová A. 2001 – The effect 2-phenoxyethanol, clove oil and Propiscin anaesthetic on perch (*Perca fluviatilis*) in relation to water temperature – Czech J. Anim. Sci. 46: 469-473.
- Hansson S., Arrhenius F., Nellbring S. 1997 – Benefits from fish stocking – Experiences from stocking young-of-the-year pikeperch, *Stizostedion lucioperca* L. to a bay in the Baltic Sea – Fish. Res. 32: 123-132.
- Hohausova E. 2000 – Exchange rate and small-scale movements of fish between a river and its backwater – Arch. Hydrobiol. 147: 485-504.
- Horký P., Slavík O., Bartoš L., Kolářová J., Randák T. 2006 – The effect of the moon phase and seasonality on the behavior of pikeperch in the Elbe River – Folia Zool. 55: 411-417.
- Houston A.H. 1997 – Review: Are the Classical Hematological Variables Acceptable Indicators of Fish Health? – Trans. Am. Fish. Soc. 126: 879-894.
- Javed M., Usmani N. 2015 – Impact of Heavy Metal Toxicity on Hematology and Glycogen Status of Fish: A Review – Proc. Natl. Acad. Sci. 85: 889-900.
- Jepsen N., Koed A., Thorstad E.B., Baras E. 2002 – Surgical implantation of telemetry transmitters in fish: how much have we learned? – Hydrobiologia 483: 239-248.
- Jepsen N., Mikkelsen J.S., Koed A. 2008 – Effects of tag and suture type on survival and growth of brown trout with surgically implanted telemetry tags in the wild – J. Fish Biol. 72: 594-602.

- Jepsen N., Pedersen S., Thorstad E. 2000 – Behavioural interactions between prey (trout smolts) and predators (pike and pikeperch) in an impounded river – Regul. Rivers: Res. Manage. 16: 189-198.
- Kazuń K., Siwicki A.K. 2012 – Propiscin – a safe new anaesthetic for fish – Arch. Pol. Fish. 20: 173-177.
- Kestemont P., Mélard C., Held J.A., Dabrowski K. 2015 – Culture Methods of Eurasian Perch and Yellow Perch Early Life Stages – W: *Biology and culture of percid fishes – principles and practices* (Red.) P. Kestemont, K. Dabrowski, R.C. Summerfelt. Wyd. Springer, Dordrecht, Holandia: 163-191.
- Koed A., Balleby K., Mejlhede P. 2002 – Migratory behaviour of adult pikeperch (*Stizostedion lucioperca*) in a lowland river – Hydrobiologia 483: 175-184.
- Koed A., Mejlhede P., Balleby K., Aarestrup K. 2000 – Annual movement and migration of adult pikeperch in a lowland river – J. Fish Biol. 57: 1266-1279.
- Kristan J., Stara A., Turek J., Policar T., Velisek J. 2012 – Comparison of the effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) – Neuroendocrinol. Lett. 33: 66-71.
- Lepic P., Stara A., Turek J., Kozak P., Velisek J. 2014 – The effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in Vimba bream, *Vimba vimba* – Vet. Med-Czech. 59: 81-87.
- Lutnicka H., Bojarski B., Witeska M., Tombarkiewicz B., Formicki G. 2019 – Exposure to herbicide linuron results in alterations in hematological profile and stress biomarkers of common carp (*Cyprinus carpio*) – Ecotoxicology 28: 69-75.
- McFarlane G.A., Wydoski R.S., Prince E.D. 1990 – Historical Review of the Development of External Tags and Marks – Am. Fish. Soc. Symp. 7: 9-29.
- Miller E.A., Froehlich H.E., Cocherell D.E., Thomas M.J., Cech J.J. Jr., Klimley A.P., Fangue N.A. 2014 – Effects of acoustic tagging on juvenile green sturgeon incision healing, swimming performance, and growth – Environ. Biol. Fish. 97: 647-658.
- Mourad M.M. 2000 – Propiscin as a new anaesthetic for fish: its effects on heart activity and some haematological aspects of carp, *Cyprinus carpio* – Alex. J. Agric. Res. 45: 9-19.

- Mulcahy D.M. 2003 – Surgical implantation of transmitters into fish – ILAR J. 44: 295-304.
- Neely B.C., Steffensen K.D., Pegg M.A. 2009 – A comparison of gastrically and surgically implanted telemetry transmitters in shovelnose sturgeon – Fish. Manage. Ecol. 16: 323-328.
- Neves J.V., Caldas C., Ramos M.F., Rodrigues P.N.S. 2016 – Hepcidin-Dependent Regulation of Erythropoiesis during Anemia in a Teleost Fish, *Dicentrarchus labrax* – PLoS One 11: e0153940.
- Phuong L.M., Damsgaard C., Huong D.T.T., Ishimatsu A., Wang T., Bayley M. 2017 – Recovery of blood gases and haematological parameters upon anaesthesia with benzocaine, MS-222 or Aqui-S in the air-breathing catfish *Pangasianodon hypophthalmus* – Ichthyol. Res. 64: 84-92.
- Polcar T., Samarin A.M., Mélard C. 2015 – Culture methods of Eurasian perch during ongrowing – W: *Biology and culture of percid fishes – principles and practices* (Red.) P. Kestemont, K. Dabrowski, R.C. Summerfelt. Wyd. Springer, Dordrecht, Holandia: 163-191.
- Sandstrom P.T., Ammann A.J., Michel C., Singer G., Chapman E.D., Lindley S., MacFarlane R.B., Klimley A.P. 2013 – Growth, survival, and tag retention of steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) and its application to survival estimates – Environ. Biol. Fish. 96: 145-164.
- Shaffi S.A. 1979 – Effects of starvation on tissue and serumgluconeogenic enzymes, alkaline phosphatase and tissue glycogen in the fresh water catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) – Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. 53: 501-505.
- Sneddon L.U. 2012 – Clinical Anesthesia and Analgesia in Fish – J. Exot. Pet. Med. 21: 32-43.
- Sopinka N.M., Donaldson M.R., O'Connor C.M., Suski C.D., Cooke S.J. 2016 – Stress Indicators in Fish – W: *Biology of Stress in Fish: Fish Physiology* (Red.) C.B. Schreck, L. Tort, A.P. Farrell, C.J. Brauner. Elsevier. Wielka Brytania, Londyn: 405-462.
- Steenfeldt S., Fontaine P., Overton J.L., Polcar T., Toner D., Falahatkr B., Horvath A., Khemis I.B., Hamza N., Mhetli M. 2015 – Current status of Eurasian percid fishes

- aquaculture – W: *Biology and culture of percid fishes – principles and practices* (Red.) P. Kestemont, K. Dąbrowski, R.C. Summerfelt. Springer, USA, NY: 817-841.
- Svačina P., Příborský J., Blecha M., Policar T., Velíšek J. 2016 – Haematological and biochemical response of burbot (*Lota lota* L.) exposed to four different anaesthetics – Czech J. Anim. Sci. 61: 414-420.
- Svoboda M. 2001 – Stress in fish – review – Bull. Res. Inst. Fish Cult. Hydrobiol. Vodňany 37: 169-191.
- Szkudlarek M., Zakęś Z. 2007 – Effect of stocking density on survival and growth performance of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), larvae under controlled conditions – Aquacult. Int. 15: 67-81.
- Thorstad E.B., Rikardsen A.H., Alp A., Økland F. 2013 – The Use of Electronic Tags in Fish Research – An Overview of Fish Telemetry Methods – Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 13: 881-896.
- Toner D., Rougeot C. 2008 – Farming of Eurasian Perch: Vol.1: Juvenile Production. Wyd. Aquacult. Explained 24, s. 80.
- Val A.L., Affonso E.G., Dealmeida V.M.F. 1992 – Adaptive features of amazon fishes – blood characteristics of curimata (*Prochilodus cf. nigricans*, Osteichthyes) – Physiol. Zool. 65: 832-843.
- Vehanen T., Lahti M. 2003 – Movements and habitat use by pikeperch (*Stizostedion lucioperca* (L.)) in a hydropeaking reservoir – Ecol. Freshw. Fish. 12: 203-215.
- Velisek J., Stara A., Li Z., Silovska S., Turek J. 2011 – Comparison of the effects of four anaesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout – Aquaculture 310: 369-375.
- Velisek J., Stejskal V., Kouřil J., Svobodová Z. 2009 – Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch – Aquacult. Res. 40: 354-361.
- Wagner G.N., Cooke S.J., Brown R.S., Deters K.A. 2011 – Surgical implantation techniques for electronic tags in fish – Rev. Fish Biol. Fish. 21: 71-81.
- Winter J.D. 1996 – Advances in Underwater biotelemetry – W: *Fisheries Techniques*, 2nd ed. (Red.) B.R. Murphy, D.W. Willis, Wyd. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland: 555-590.

- Witeska M., Dudyk J., Jarkiewicz N. 2015 – Haematological effects of 2-phenoxyethanol and etomidate in carp (*Cyprinus carpio* L.) – Vet. Anaesth. Analg. 42: 537-546.
- Witeska M., Teodorczuk B., Ługowska K. 2017 – Hematological effects of etomidate and tricaine in common carp – Turk. J. Vet. Anim. Sci. 41: 93-98.
- Wood C.M., McMahon B.R., McDonald D.G. 1977 – An analysis of changes in blood pH following exhausting activity in the starry flounder, *Platichthys stellatus* – J. Exp. Biol. 69: 173-185
- Zakęś Z. 2007 – Out-of-season spawning of cultured pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – Aquacult. Res. 38: 1419-1427.
- Zakęś Z. 2017 – Chów i hodowla sandacza – Wyd. IRS, Olsztyn, s. 212.
- Zakęś Z., Hopko M. 2013 – Tagging juvenile pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) in the cheek with Passive Integrated Transponders (PIT) – impact on rearing indexes and tag retention – Arch. Pol. Fish. 21: 243-248.
- Zakęś Z., Kapusta A., Hopko M., Szczepkowski M., Kowalska A. 2015b – Growth, survival and tag retention in juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) in laboratory conditions – Aquacult. 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. 2015a – Z akwakultury do natury. Opracowanie alternatywnych metod zarządzania rybołówstwem drapieżnych ryb jeziorowych (Red.) Z. Zakęś, M. Szczepkowski, Wyd. IRS, Olsztyn, s. 224.
- Zakęś Z., Szczepkowski M., Partyka K., Wunderlich K. 2013 – Effect of gonadotropin hormonal stimulation on out-of-season propagation success of different year classes of indoor-reared pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – Aquacult. Int. 21: 801-810.

ZAŁĄCZNIKI

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Ziomek E., Demska-Zakęś K., Kowalska A., Zakęś Z. 2016 – Propiscin – a safe anesthetic for pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – Acta Vet. Hung., 64: 415-424,

mój indywidualny wkład w opracowanie koncepcji, wykonanie części eksperymentalnej, opracowanie i interpretację wyników, zbieranie piśmiennictwa i przygotowanie manuskryptu wyżej wymienionej publikacji, składającej się na rozprawę doktorską wyniósł **50%**.

mgr inż. Maciej Rożyński

05.06.2020 Maciej Rożyński

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Ziomek E., Demska-Zakęś K., Kowalska A., Zakęś Z. 2016 – Propiscin – a safe anesthetic for pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – Acta Vet. Hung., 64: 415-424,

mój udział procentowy wyniósł **5%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☐

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

mgr inż. Elżbieta Ziomek

3.V.2020 Elżbieta Ziomek

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Ziomek E., Demska-Zakęś K., Kowalska A., Zakęś Z. 2016 – Propiscin – a safe anesthetic for pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – Acta Vet. Hung., 64: 415-424,

mój udział procentowy wyniósł **10%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☒

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☐

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☒

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

prof. dr hab. Krystyna Demska-Zakęś

04.06.2020 Demska-Zakęś
data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Ziomek E., Demska-Zakęś K., Kowalska A., Zakęś Z. 2016 – Propiscin – a safe anesthetic for pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – Acta Vet. Hung., 64: 415-424,

mój udział procentowy wyniósł **15%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐ koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐ pisanie pracy

☐ zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐ graficzne przedstawienie wyników

☐ prowadzenie badań

☐ zbieranie piśmiennictwa

☒ zbieranie danych

☐ konsultacja i opieka

☐ analiza statystyczna

☒ korekta pracy przed złożeniem do druku

☒ interpretacja wyników

☐ zdobywanie środków finansowych

dr hab. Agata Kowalska

05.06.2020 Agata Kowalska

.....
data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Ziomek E., Demska-Zakęś K., Kowalska A., Zakęś Z. 2016 – Propiscin – a safe anesthetic for pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – Acta Vet. Hung., 64: 415-424,

mój udział procentowy wyniósł **20%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☒

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☒

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

prof. dr hab. Zdzisław Zakęś

05.06.20
data i podpis

PROPISCIN – A SAFE ANAESTHETIC FOR PIKEPERCH (*SANDER LUCIOPERCA* L.)

Maciej ROŻYŃSKI^{1*}, Elżbieta ZIOMEK², Krystyna DEMSKA-ZAKĘŚ², Agata KOWALSKA¹
and Zdzisław ZAKĘŚ¹

¹Department of Aquaculture, The Stanisław Sakowicz Inland Fisheries Institute,
ul. Oczapowskiego 10, 10-719 Olsztyn, Poland; ²Department of Ichthyology,
Faculty of Environmental Sciences, University of Warmia and Mazury, Olsztyn, Poland

(Received 15 December 2015; accepted 15 July 2016)

The aim of this work was to determine the impact of etomidate (Propiscin) dose (1 and 2 ml l⁻¹) and exposure time (2 and 10 min) on the biochemical and haematological parameters of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) [mean body length (Lc) 25.9 cm; body weight (W) 189.9 g] that were reared in a recirculating aquaculture system (RAS). Significant changes in the mean values of total protein, globulin, calcium, magnesium, and ammonia were noted in all groups immediately following exposure. The greatest changes in the haematological indicators were observed in groups subjected to 10-min exposure at both doses of the anaesthetic. The specimens from these groups had higher values for white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), haemoglobin (HGB), haematocrit (HCT), and mean corpuscular volume (MCV). Statistically significant differences in these same parameters were also noted in the groups of fish exposed to the anaesthetic for 2 min at a dose of 2 ml l⁻¹, but they were not as pronounced. Twenty-four h following exposure to etomidate, all blood parameters in the experimental groups were comparable to those of the control group. Etomidate can be recommended as a safe, effective anaesthetic for pikeperch.

Key words: Anaesthesia, biochemical blood indicators, etomidate, haematology, pikeperch

The application of anaesthetics is essential and quite common in aquaculture (Husen and Sharma, 2014). Once the fish are anaesthetised, their bodies relax, and stress caused by stimuli from the external environment is limited. Additionally, anaesthesia permits shortening the time required for manipulations and minimises their negative impacts such as mechanical injury or mortality following manipulation. In aquaculture, anaesthetics are used during transport, sorting, tagging, periodic reviews, monitoring breeding, and many other manipulations (Munday and Wilson, 1997; Ross and Ross, 1999; Velisek et al., 2011; Kristan et al., 2012).

*Corresponding author; E-mail: m.rozynski@infish.com.pl; Phone: 0048 (89) 524-1071; Fax: 0048 (89) 524-0505

The use of chemical anaesthetics in aquaculture is strictly controlled primarily to ensure their safe and effective application (Taylor and Roberts, 1999). Anaesthetics used in rearing pikeperch (*Sander lucioperca*) include etomidate (Propiscin), clove oil, and MS-222 (Kristan et al., 2014). Propiscin is an anaesthetic that was developed at the Inland Fisheries Institute in Olsztyn, Poland (IFI Olsztyn). It contains a 0.2% stabilised solution of etomidate (Kazuń and Siwicki, 2012). Etomidate quickly induces general anaesthesia in fish with a subsequent short recovery period. Since this anaesthetic does not have a significant impact on fish physiology, it is viewed as a substance of low toxicity and insignificant side effects (Kazuń and Siwicki, 2012). Etomidate is used fairly widely to induce general anaesthesia in fish in experimental aquaculture (Hajek and Kłyszajko, 2004). It is often used in research work focusing on the controlled reproduction and rearing of pikeperch in recirculating aquaculture systems (RAS) (Zakęś et al., 2013). The recommended dose for pikeperch is 1–2 ml l⁻¹ water (Szkudlarek and Zakęś, 1996; Zakęś et al., 2013). However, current knowledge on the impact of Propiscin on the haematological and biochemical parameters of pikeperch reared in RAS (health status and/or wellbeing) is incomplete. Additionally, it is not known if this anaesthetic is fully physiologically safe for this species.

Etomidate minimises the negative impacts of manipulation (mechanical injury and stress) on fish, but it can cause certain changes in haematological and blood biochemical parameters (Lepic et al., 2014). Determining the impact of exposure time and dose on pikeperch haematological and blood biochemical parameters was justified in the light of its application in pikeperch reproduction and rearing in RAS.

Materials and methods

The study material was obtained from out-of-season pikeperch reproduction and rearing larval and juvenile stages in RAS. In the current study, an experimental RAS prototype was used that included 200-l rearing tanks and a biological filter filled with RK BioElements (RK Plast, Denmark) (Z. Zakęś, unpublished data). During the rearing of the juvenile stages [body weight (W) > 100 g], the water parameters in the RAS were maintained as follows: temperature 21.7 °C (range 20.7–22.6 °C); pH 8.24 (range 8.22–8.26); oxygen concentration at rearing tank outflows 7.1 mg O₂ l⁻¹ (range 7.0–7.2 mg O₂ l⁻¹); concentrations of total ammonia nitrogen (TAN = NH₄⁺-N + NH₃-N) and nitrite (NO₂) at the outflows 0.034 mg TAN l⁻¹ and 0.002 mg NO₂ l⁻¹. The fish were fed granulated feed (2.5 mm) continually for 19 h d⁻¹ (09:00–04:00) with an E-1P Stella (Skretting, Norway) automated band feeder. The feed composition was 47.0% protein, 14.0% lipids, and 21.0% carbohydrates.

The fish were not fed for 24 h prior to the experiment. Fish with a mean body length (Lc) of 25.9 cm and body weight (W) of 189.89 g were divided into

eight experimental groups and one control group. Each group comprised seven specimens ($n = 7$) (Table 1). The specimens were placed in plastic containers with a volume of 80 l, each filled with water from the RAS at the intakes to the rearing tanks in which the fish were held. During the test, the water parameters were as follows: temperature 21.3 °C; oxygen concentration 7.2 mg O₂ l⁻¹; water pH 8.2; electrolytic conductivity 380 µS cm⁻¹; overall water hardness 170 mg CaCO₃ l⁻¹. The fish were subjected to either short-term (2 min) or long-term (10 min) anaesthesia at two different doses of Propiscin containing a 0.2% stabilised solution of etomidate (IFI Olsztyn, Poland; Kazuń and Siwicki, 2001) of 1 or 2 ml l⁻¹ (Table 1). Blood for haematological and biochemical analyses was collected from the four experimental groups immediately after exposure to the anaesthetic (0 h). Each fish was anaesthetised individually. After blood had been drawn from one specimen, a subsequent specimen was removed from the rearing tank, anaesthetised, and its blood was drawn ($n = 7$). However, after anaesthesia the other four groups were moved to rearing tanks in the RAS (volume: 200 l, stocking density: 6.64 kg fish m⁻³, water flow rate: 4 l min⁻¹, water exchange: 1.2 exchanges h⁻¹; each group separately), and blood for haematological and biochemical analyses was collected from them after 24 h. The control group comprised specimens from which blood was collected immediately after they had been moved to the container without the addition of any anaesthetic. The methodology of administering the anaesthetic and collecting blood samples was similar to that described in the works of Velisek et al. (2009), Velisek et al. (2011), and Kristan et al. (2012).

Table 1

Experimental setup for the application of etomidate to pikeperch ($n = 7$)

Specification	Units	Control group	Experimental groups							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration	ml l ⁻¹	0	1	1	2	2	1	1	2	2
Exposure time	min	0	2	10	2	10	2	10	2	10
Sampling	h	0	0	0	0	0	24	24	24	24

Approximately 2 ml of blood was drawn directly from the caudal vein using heparinised syringes. The haematological measurements of white blood cell counts (WBC), red blood cell counts (RBC), haemoglobin (HGB), haematocrit (HCT), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH), and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) were performed with a semi-automatic BC-2800 VET haematology analyzer (Mindray, China). After centrifugation at 4000 rpm for 3 min (Fresco 17, Thermo Scientific, USA), the content of the following was determined in the serum with a BS-120 automatic biochemical analyser (Mindray, China): creatinine (CREA), total protein (TP),

total bilirubin (BIL-T), alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), calcium (Ca^{2+}), albumin (ALB), globulin (GLB), glucose (GLU), magnesium (Mg^{2+}), and ammonia (NH_3).

The results were analysed statistically with GraphPad Prism (Soft. Inc., USA). The normality of data distribution and homogeneity of variances were tested using standard procedures. Means were compared with one-way analysis of variance (ANOVA). When significant differences were found among individual experimental groups ($P \leq 0.05$), further statistical analysis was performed with the Tukey test. All values are expressed in percentages, and prior to statistical analyses, they were converted using *arcsin*.

Results

Full general anaesthesia was induced in the fish from all the groups as was indicated by, among other signs, the lack of defensive reflexes, a lack of eyeball movement, and lateral recumbency. No mortality linked to the anaesthetic was observed. After the fish were held in oxygenated water for 10–15 min, all specimens were roused and regained full consciousness.

Creatinine levels were significantly higher in fish exposed for 10 min at both doses of the anaesthetic ($P < 0.05$), but after 24 h, the values of this parameter were comparable to those of the control group ($P > 0.05$; Table 2). Although higher levels of total protein and globulin were found in all experimental groups immediately following anaesthesia, after 24 h these levels were similar to those of the control group. The 10-min exposure time to the anaesthetic at both doses had a significant impact on increased glucose levels in the blood of pikeperch, but these changes reverted to previous levels after 24 h. Similarly, levels of calcium, magnesium and ammonia were substantially higher in the blood of the fish immediately following anaesthesia as compared to the control group ($P < 0.05$; Table 2).

The highest WBC count was observed in specimens that had been exposed to the anaesthetic for 10 min at doses of 1 and 2 ml l⁻¹ ($P < 0.05$; Table 3). However, after 24 h the WBC count returned to the initial value, i.e. to that of the control group. Significantly higher values of RBC, HGB and HCT were noted at both doses in specimens subjected to long-term etomidate exposure. The values of these parameters in all groups reverted to levels comparable to those of the control group after 24 h ($P > 0.05$).

Table 2
Impact of general anaesthesia induced by exposure to etomidate (Propiscin – anaesthetic concentration: 1 or 2 ml l⁻¹ / exposure time: 2 or 10 min) on the blood biochemical profiles of pikeperch (mean values \pm SE; n = 7)

Specification	Units	Control group	Time (0 h)				Time (24 h)			
			1 ml/2 min	2 ml/2 min	1 ml/10 min	2 ml/10 min	1 ml/2 min	2 ml/2 min	1 ml/10 min	2 ml/10 min
Creatinine (CREA)	mg dl ⁻¹	0.17 ^a \pm 0.04	0.17 ^a \pm 0.02	0.19 ^{ac} \pm 0.05	0.41 ^d \pm 0.08	0.39 ^{bcd} \pm 0.08	0.17 ^a \pm 0.02	0.14 ^a \pm 0.02	0.18 ^{ab} \pm 0.01	0.17 ^a \pm 0.03
Total protein (TP)	g dl ⁻¹	3.48 ^a \pm 0.24	4.37 ^{bc} \pm 0.09	4.61 ^c \pm 0.15	4.63 ^c \pm 0.13	4.69 ^c \pm 0.23	3.54 ^a \pm 0.09	3.67 ^a \pm 0.07	3.59 ^a \pm 0.09	3.71 ^{ab} \pm 0.16
Total bilirubin (BIL-T)	mg dl ⁻¹	0.13 ^{ac} \pm 0.04	0.17 ^{bcd} \pm 0.02	0.40 ^{ce} \pm 0.16	0.42 ^{de} \pm 0.03	0.22 ^{bcd} \pm 0.03	0.17 ^{bcd} \pm 0.04	0.14 ^{ac} \pm 0.03	0.10 ^{ab} \pm 0.01	0.14 ^{ac} \pm 0.03
Alanine transaminase (ALT)	U l ⁻¹	12.67 ^b \pm 4.20	10.29 ^{ab} \pm 2.45	12.00 ^{ab} \pm 3.82	15.14 ^a \pm 4.12	30.29 ^{ab} \pm 9.35	21.43 ^{ab} \pm 2.10	11.29 ^b \pm 2.98	12.57 ^b \pm 8.16	7.71 ^{ab} \pm 2.24
Alkaline phosphatase (ALP)	U l ⁻¹	56.00 ^a \pm 5.90	66.00 ^{ab} \pm 5.01	78.29 ^b \pm 3.98	66.14 ^{ab} \pm 5.25	62.14 ^{ab} \pm 4.21	60.71 ^{ab} \pm 2.87	61.57 ^{ab} \pm 3.58	63.14 ^{ab} \pm 2.94	58.14 ^a \pm 3.62
Albumin (ALB)	g dl ⁻¹	1.29 ^a \pm 0.14	1.42 ^a \pm 0.06	1.44 ^a \pm 0.08	1.60 ^a \pm 0.10	1.76 ^a \pm 0.17	1.33 ^a \pm 0.05	1.31 ^a \pm 0.04	1.33 ^a \pm 0.04	1.42 ^a \pm 0.17
Globulin (GLB)	g dl ⁻¹	2.20 ^a \pm 0.13	2.95 ^b \pm 0.07	3.17 ^b \pm 0.14	3.03 ^b \pm 0.13	2.93 ^b \pm 0.10	2.21 ^a \pm 0.06	2.35 ^a \pm 0.04	2.26 ^a \pm 0.06	2.28 ^a \pm 0.07
Glucose (GLU)	mg dl ⁻¹	58.00 ^a \pm 6.00	65.71 ^a \pm 3.04	78.43 ^a \pm 7.59	139.10 ^b \pm 22.07	142.90 ^b \pm 20.76	67.14 ^a \pm 5.00	63.29 ^a \pm 2.88	65.71 ^a \pm 5.07	57.57 ^a \pm 5.02
Calcium (Ca ²⁺)	mg dl ⁻¹	10.70 ^a \pm 0.29	13.31 ^{bc} \pm 0.27	13.71 ^c \pm 0.46	13.53 ^c \pm 0.49	12.93 ^c \pm 0.46	11.13 ^{ab} \pm 0.09	11.13 ^a \pm 0.14	10.79 ^a \pm 0.08	10.57 ^a \pm 0.18
Magnesium (Mg ²⁺)	mg dl ⁻¹	2.69 ^a \pm 0.10	4.09 ^b \pm 0.12	3.89 ^b \pm 0.22	4.06 ^b \pm 0.13	3.60 ^b \pm 0.15	2.84 ^a \pm 0.06	2.87 ^a \pm 0.06	2.69 ^a \pm 0.05	2.53 ^a \pm 0.08
Ammonia (NH ₃)	µg dl ⁻¹	519.60 ^a \pm 46.18	1648.00 ^b \pm 61.50	1607.00 ^b \pm 126.20	1385.00 ^b \pm 134.80	1181.00 ^b \pm 93.06	427.90 ^a \pm 27.24	457.50 ^a \pm 48.95	443.20 ^a \pm 56.68	499.70 ^a \pm 64.44

Groups with the same superscript letters in a given row do not differ significantly ($P > 0.05$)

Table 3
Impact of general anaesthesia induced by exposure to etomidate (Propiscin – anaesthetic concentration: 1 or 2 ml l⁻¹ / exposure time: 2 or 10 min) on the haematological profile of pikeperch (mean values ± SE; n = 7)

Specification	Units	Control group	Time (0 h)				Time (24 h)			
			1 ml/2 min	2 ml/2 min	1 ml/10 min	2 ml/10 min	1 ml/2 min	2 ml/2 min	1 ml/10 min	2 ml/10 min
WBC	10 ³ µl ⁻¹	52.46 ^a ± 3.46	76.83 ^{abc} ± 2.23	90.39 ^c ± 4.07	127.50 ^d ± 7.18	117.20 ^d ± 4.35	78.41 ^{bc} ± 7.13	64.11 ^{ab} ± 8.58	56.44 ^{ab} ± 4.56	56.33 ^{ab} ± 5.38
RBC	10 ⁶ µl ⁻¹	1.28 ^a ± 0.06	1.46 ^{ab} ± 0.02	1.71 ^b ± 0.07	2.20 ^c ± 0.11	2.09 ^c ± 0.07	1.51 ^{ab} ± 0.08	1.44 ^{ab} ± 0.12	1.39 ^{ab} ± 0.07	1.38 ^{ab} ± 0.08
HGB	g l ⁻¹	30.43 ^a ± 1.51	35.00 ^{ab} ± 0.65	41.71 ^b ± 1.80	54.29 ^c ± 2.33	52.14 ^c ± 2.26	37.57 ^{ab} ± 1.99	33.14 ^{ab} ± 2.93	31.86 ^a ± 1.30	31.71 ^a ± 1.75
HCT	%	24.19 ^a ± 1.03	27.69 ^{ab} ± 0.69	33.51 ^b ± 1.47	45.47 ^c ± 1.92	44.49 ^c ± 1.81	28.33 ^{ab} ± 1.53	26.57 ^{ab} ± 2.16	25.31 ^a ± 1.02	25.76 ^a ± 1.41
MCV	fl	146.80 ^{ab} ± 2.99	146.70 ^{ab} ± 2.24	151.50 ^{bc} ± 1.63	159.60 ^{cd} ± 1.79	164.10 ^d ± 2.24	145.50 ^{ab} ± 2.04	143.20 ^{ab} ± 2.37	141.10 ^a ± 1.75	144.80 ^{ab} ± 1.46
MCH	pg	29.19 ^a ± 0.90	29.47 ^a ± 0.37	29.70 ^a ± 0.53	29.99 ^a ± 0.46	30.39 ^a ± 0.62	30.46 ^a ± 0.81	28.33 ^a ± 0.71	28.10 ^a ± 0.30	28.21 ^a ± 0.33
MCHC	g l ⁻¹	199.30 ^{abc} ± 3.75	201.30 ^d ± 1.97	196.00 ^{ad} ± 1.96	187.90 ^{bc} ± 1.79	185.30 ^{ab} ± 1.71	209.60 ^e ± 3.62	198.30 ^{abc} ± 3.73	199.60 ^{abc} ± 1.70	195.40 ^{bcd} ± 2.46

Groups with the same superscript letters in a given row do not differ significantly ($P > 0.05$). For explanations see the Materials and methods section

Discussion

Anaesthesia is essential during many procedures used in aquaculture, since it permits performing manipulations efficiently and minimises injuries to fish. Different fish species react differently to doses of and exposure times to anaesthetics, which is why it is important to determine the range of their impact on fish (Topić Popović et al., 2012). Haematological and blood biochemical values are used very frequently in toxicology studies (Velisek et al., 2011). The doses of Propiscin (1 and 2 ml l⁻¹) applied in this study are those recommended for pikeperch, while the exposure times (2 and 10 min) are shorter than those permissible and/or safe for this species at a water temperature of 22 °C, which is, at a concentration of 2 ml Propiscin l⁻¹, 15 min (Z. Zakęś, unpublished data). The pikeperch anaesthesia induced with Propiscin in the current study was identical to that observed in previous studies (Szkudlarek and Zakęś, 1996). In none of the anaesthetic variants tested on pikeperch (W = 189.89 g) in this study were long-term (≥ 24 h) changes noted in the values of blood biochemistry parameters. Although the anaesthesia caused increased contents of protein, globulin, calcium, magnesium, and ammonia in fish blood (during the 0–10 min period following exposure), the values of these parameters noted after 24 h were significantly lower and closer to the values demonstrated in the control group and to those determined previously for this species reared in RAS (Siwicki et al., 2003). The short-term, elevated values of total protein, globulin, calcium and magnesium noted in all pikeperch groups immediately following exposure to etomidate could indicate dehydration in the fish. Velisek et al. (2011) did not note elevated values of these parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (1 ml l⁻¹; exposure time 10 min), nor did Mourad (2000) in carp (*Cyprinus carpio*) after exposure to an aqueous etomidate solution. These findings are most likely illustrations of species particularities. It is also noteworthy that Kristan et al. (2012) did not note changes in the following parameters in pikeperch exposed to etomidate (Propiscin) (1.5 ml l⁻¹; anaesthesia period 10 min): glucose, total protein, albumin, globulin, alanine transaminase, alkaline phosphatase, calcium, magnesium, ammonia.

Glucose concentration increased considerably in pikeperch from both groups exposed to the etomidate solution for 10 min. This was most likely caused by the fish bodies releasing catecholamine (adrenalin, noradrenalin and dopamine) as a result of metabolic stress (Velisek et al., 2009). Similar results were reported for vimba bream (*Vimba vimba*) immediately after 10-min exposure and 24 h later (Lepic et al., 2014), and for carp in which the level of this parameter increased significantly during anaesthesia, reaching maximum values 2 h after exposure (Mourad, 2000). Velisek et al. (2009) observed substantial increases in blood glucose levels of perch (*Perca fluviatilis*) exposed to MS-222, clove oil, and 2-phenoxyethanol for 10 min. However, after exposure to etomi-

date (Propiscin), they did not observe such high values of this parameter immediately following anaesthesia or 24 h later.

Elevated concentrations of ammonia in the blood of pikeperch from all groups immediately following exposure to etomidate could indicate increased protein catabolism and disruption in ammonia excretion (Svoboda, 2001). Velisek et al. (2009) did not observe changes in the level of this parameter when perch were exposed to etomidate (Propiscin) (1 ml l^{-1}) for 10 min. Similarly, Kristan et al. (2012) did not find significant changes in blood ammonia levels immediately after pikeperch exposure to etomidate; however, 24 h following anaesthesia the level of this compound in the blood was significantly lower than in the control group. In the current study, the ammonia levels 24 h after exposure were also lower in all experimental groups than in the control group; however, the differences were not statistically significant. The neutralisation of ammonia probably occurred through its transformation into non-toxic glutamine (Gomułka et al., 2014).

After anaesthesia, the WBC count in pikeperch blood increased along with the etomidate dose and exposure time, but after 24 h the values in all groups approached the results observed in the specimens from the control group. The intensification of stress factors and exposure to them can have a very big impact on immune system function. Kristan et al. (2012) did not observe significant decreases in WBC counts until 24 h after a 10-min exposure to etomidate and to other anaesthetics tested (MS-222, clove oil, 2-phenoxyethanol). Severe stress can induce significant negative changes in WBC counts and in the functioning of the immune system. Reactions to environmental changes can even lead to leukopenia with lymphopenia, and sometimes neutrophilia (Kristan et al., 2012). Blood levels of cortisol, which is excreted in response to stress and can shorten the lifespan of lymphocytes, foster their apoptosis (Wyets et al., 1998; Verburg van Kemenade, 1999) and also reduce their proliferation (Espelid et al., 1996), can affect WBC counts. This is why lower lymphocyte counts and decreased lymphocyte activity are often observed as a stress reaction regardless of the stress factor.

Hypoxaemia, which is a reduction in the partial pressure of oxygen in the blood, is a commonly occurring phenomenon after exposure to anaesthetics (Witeska et al., 2015). Oxygen deficits can be accompanied by slow gill movements and decreased heart rates (Mourad, 2000). The values of all of the basic blood parameters (RBC, HGB, HCT) in pikeperch are observed to increase with higher doses and longer exposure times to etomidate. Mourad (2000) also noted higher values of these parameters during exposure of carp to etomidate, but this anaesthetic did not always induce haematological changes in this species (Kazuń and Siwicki, 2001; Kristan et al., 2012; Lepic et al., 2014). During etomidate exposure in the current experiment, the only red blood cell parameter that changed significantly was mean corpuscular volume (MCV) immediately after exposure. In an experiment with pikeperch exposed to Propiscin (1.5 ml l^{-1} , 10 min), Kris-

tan et al. (2012) observed significant changes in mean corpuscular haemoglobin concentrations; additionally, these were sustained for more than 24 h after anaesthesia was induced. These authors concluded that etomidate in the dose tested is not an appropriate agent for inducing general anaesthesia in pikeperch. The current study indicates, however, that all changes occurring as a result of applying this anaesthetic are reversed after 24 h. Similarly, Lepic et al. (2014) did not observe etomidate to cause significant differences in the values of red blood cell parameters in vimba bream. It is possible that the differences detected could be linked to differences in fish condition or to differences in the chemistry of the water used during anaesthesia (Sneddon, 2012).

Taking into consideration the significant increases in some parameters following long-term exposure (10 min) to the higher dose of etomidate (Propiscin) (2 ml l^{-1}), one could conclude that good markers of the impact of anaesthesia on pikeperch reared in RAS are those pertaining to blood, such as levels of total protein, globulin, glucose, calcium, magnesium, and ammonia. Although short-term exposure at a lower dose of anaesthetic (2 min, 1 ml l^{-1}) had a lesser impact on the pikeperch, all of the changes in haematological and blood biochemistry parameters noted with long-term exposure at the higher dose (10 min, 2 ml l^{-1}) were also reversed after 24 h. This study indicates that etomidate (Propiscin) in the doses tested, i.e., 1 and 2 ml l^{-1} , is a safe, effective and non-toxic anaesthetic for pikeperch, and it can be applied successfully for exposure periods of 10 min. Propiscin used for short- and long-term manipulation can limit the impact of stress caused by many factors in pikeperch. The selection of the dose and exposure period can be made according to the requirements of manipulation (e.g., monitoring fish measurements, tagging, artificial reproduction). It is noteworthy that Propiscin can not only be used with freshwater percids, but also in marine representatives of this taxonomic fish group such as the European seabass (*Dicentrarchus labrax*) (Maršić-Lučić et al., 2005).

Acknowledgements

This study was conducted as part of the statutory research topic number S-028 of the Inland Fisheries Institute in Olsztyn, Poland. The authors would like to thank the two anonymous referees whose advice substantially improved the manuscript.

References

- Espelid, S., Lokken, G. B., Steiro, K. and Bogwald, J. (1996): Effects of cortisol and stress on the immune system in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Shellfish Immun.* **6**, 95–110.
- Gomułka, P., Własow, T., Szczepkowski, M., Misiewicz, L. and Ziomek, E. (2014): The effect of propofol anaesthesia on haematological and biochemical blood profile of European whitefish. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* **14**, 331–337.

- Hajek, G. and Kłyszajko, B. (2004): The effects of Propiscin (etomidate) on the behaviour, heart rate, and ventilation of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Acta Ichthyol. Piscat.* **34**, 129–143.
- Husen, A. and Sharma, S. (2014): Efficacy of anesthetics for reducing stress in fish during aquaculture practices – a review. *KUSET* **10**, 104–123.
- Kazuń, K. and Siwicki, A. K. (2001): The use of Propiscin for general anaesthesia and transport of fish [in Polish]. Wydawnictwo IRS, Poland.
- Kazuń, K. and Siwicki, A. K. (2012): Propiscin – a safe new anesthetic for fish. *Arch. Pol. Fish.* **20**, 173–177.
- Kristan, J., Stara, A., Polgesek, M., Drasovean, A., Kolarova, J., Priborsky, J., Blecha, M., Svacina, P., Policar, T. and Velisek, J. (2014): Efficacy of different anaesthetics for pikeperch (*Sander lucioperca* L.) in relation to water temperature. *Neuroendocrinol. Lett.* **35**, 81–85.
- Kristan, J., Stara, A., Turek, J., Policar, T. and Velisek, J. (2012): Comparison of the effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Neuroendocrinol. Lett.* **33** (3), 66–71.
- Lepic, P., Stara, A., Turek, J., Kozak, P. and Velisek, J. (2014): The effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in vimba bream, *Vimba vimba*. *Vet. Med-Czech.* **59**, 81–87.
- Maršić-Lučić, J., Mladineo, I. and Tudor, M. (2005): Comparative effectiveness of 2-phenoxyethanol and Propiscin as anesthetics for juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Aquac. Int.* **13**, 543–553.
- Mourad, M. M. (2000): Propiscin as a new anaesthetic for fish: its effects on heart activity and some haematological aspects of carp, *Cyprinus carpio*. *Alex. J. Agric. Res.* **45**, 9–19.
- Mundey, P. L. and Wilson, S. K. (1997): Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetisation of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. *J. Fish Biol.* **51**, 931–938.
- Ross, L. G. and Ross, B. (1999): *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*. Second Edition. Blackwell Science Ltd., Oxford. 159 pp.
- Siwicki, A. K., Zakęś, Z., Trapkowska, S., Kowalska, A., Kazuń, K. and Głabski, E. (2003): Selected hematological and biochemical parameters of pikeperch *Sander lucioperca* (L.) from intensive culture. *Arch. Pol. Fish.* **11**, 17–22.
- Sneddon, L. U. (2012): Clinical Anesthesia and Analgesia in Fish. *J. Exot. Pet Med.* **21**, 32–43.
- Svoboda, M. (2001): Stress in fish – review. *Bulletin Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodňany* **37**, 169–191.
- Szkudlarek, M. and Zakęś, Z. (1996): Using Propiscin to induce general anesthesia in pikeperch (*Stizostedion lucioperca* L.) [in Polish]. *Komun. Ryb.* **6**, 7–8.
- Taylor, P. W. and Roberts, S. D. (1999): Clove oil: An alternative anaesthetic for aquaculture. *N. Am. J. Aquac.* **61**, 150–155.
- Topić Popović, N., Strunjak-Perović, I., Čož-Rakovac, R., Barišić, J., Jadan, J., Persin Berakovic, A. and Sauerborn Klobučar, R. (2012): Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. *J. Appl. Ichthyol.* **28**, 553–564.
- Velisek, J., Stara, A., Li, Z., Silovska, S. and Turek, J. (2011): Comparison of the effects of four anaesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Aquaculture* **310**, 369–375.
- Velisek, J., Stejskal, V., Kouřil, J. and Svobodová, Z. (2009): Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch. *Aquac. Res.* **40**, 354–361.
- Verburg van Kemenade, B. M., Nowak, B., Engelsma, M. Y. and Wyets, F. A. (1999): Differential effects of cortisol on apoptosis and proliferation of carp B-lymphocytes from head kidney, spleen and blood. *Fish Shellfish Immun.* **9**, 405–415.
- Witeska, M., Dudyk, J. and Jarkiewicz, N. (2015): Haematological effects of 2-phenoxyethanol and etomidate in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Vet. Anaesth. Analg.* **42**, 537–546.
- Wyets, F. A., Flikt, G. and Verburg van Kemenade, B. M. (1998): Cortisol inhibits apoptosis in carp neutrophilic granulocytes. *Dev. Comp. Immunol.* **22**, 563–572.
- Zakęś, Z., Szczepkowski, M., Partyka, K. and Wunderlich, K. (2013): Effect of gonadotropin hormonal stimulation on out-of-season propagation success of different year classes of indoor-reared pikeperch [*Sander lucioperca* (L.)]. *Aquac. Int.* **21**, 801–810.

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Demska-Zakęś K., Sikora A., Zakęś Z. 2018 – Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.) – Fish Physiol. Biochem., 44: 927-937,

mój indywidualny wkład w opracowanie koncepcji, wykonanie części eksperymentalnej, opracowanie i interpretację wyników, zbieranie piśmiennictwa i przygotowanie manuskryptu wyżej wymienionej publikacji, składającej się na rozprawę doktorską wyniósł **50%**.

mgr inż. Maciej Rożyński

05.06.2020 Maciej Rożyński

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Demska-Zakęś K., Sikora A., Zakęś Z. 2018 – Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.) – Fish Physiol. Biochem., 44: 927-937,

mój udział procentowy wyniósł **20%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☒

pisanie pracy

☒

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☐

przewodzenie badań

☒

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☒

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

prof. dr hab. Krystyna Demska-Zakęś

04.06.2020. Demska-Zakęś.....
data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Demska-Zakęś K., Sikora A., Zakęś Z. 2018 – Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.) – Fish Physiol. Biochem., 44: 927-937,

mój udział procentowy wyniósł **5%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☒

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☐

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☐

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

mgr Agnieszka Sikora

03.06.2020 Agnieszka Sikora.

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Demska-Zakęś K., Sikora A., Zakęś Z. 2018 – Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.) – Fish Physiol. Biochem., 44: 927-937,

mój udział procentowy wyniósł **25%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☒

pisanie pracy

☒

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☐

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☒

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☒

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

prof. dr hab. Zdzisław Zakęś

05.06.20 Z. Zakęś
data i podpis

Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.)

Maciej Rożyński  · Krystyna Demska-Zakęś ·
Agnieszka Sikora · Zdzisław Zakęś

Received: 22 November 2017 / Accepted: 12 February 2018 / Published online: 23 February 2018
© The Author(s) 2018. This article is an open access publication

Abstract The aim of the study was to describe the course and timing of the different stages of anesthesia induced with Propiscin (etomidate) on juvenile European perch (experiment I) and to describe the effect of immersing specimens of this species had on selected hematological and biochemical parameters (experiment II). The study was conducted on material with body weights (BW) of 162.98 (experiment I) and 171.60 g (experiment II). In experiment I, general anesthesia was induced with two different anesthetic concentrations (1 or 2 ml l⁻¹; anesthesia time 10 min). In experiment II, blood was drawn for hematological and biochemical analyses from the fish that had been exposed to anesthetic immersion baths with two different concentrations of Propiscin (1 and 2 ml l⁻¹) and for different exposure times (3 and 10 min). Blood samples were collected immediately following immersion (0 h) and 24 h later (24 h). Specimens that were immersed at the higher concentration of anesthetic achieved subsequent stages of general anesthesia two times faster ($P \leq 0.05$). However, during recovery, some statistically significant differences were observed, but these lasted only until stage I was achieved. Among the hematological parameters (0

h), significant differences were observed in hematocrit (HCT) and mean corpuscular volume (MCV), while among the biochemical determinations (0 h), statistically significant differences were noted in the concentrations of glucose, calcium, lactate, and ammonia. After 24 h, the levels of these parameters in all fish groups returned to initial values. The hematological and biochemical tests conducted permit concluding that the anesthetic tested, at the concentrations (1 and 2 ml l⁻¹) and the exposure times of up to 10 min at which it was tested, is safe and can be used successfully to induce general anesthesia in perch.

Keywords Analgesia · Anesthetic · Biochemical blood indicators · Hematology · European perch

Introduction

Percid fishes are among the so-called promising species for aquaculture (Kestemont et al. 2015a). In Europe over the past two decades, particular attention in aquaculture has been focused on two species: pikeperch (*Sander lucioperca*) and European perch (*Perca fluviatilis*). In the case of the second of the two taxa, fairly precise biological techniques have been developed for culturing larval and juvenile stages and for on-growing in various culture systems (Toner and Rougeot 2008, Kestemont et al. 2015b, Policar et al. 2015). In the context of intensifying perch production, the most promising technique appears to be culturing this species in recirculating aquaculture system (RAS) (Kestemont et al. 2015b).

M. Rożyński (✉) · Z. Zakęś
Department of Aquaculture, The Stanisław Sakowicz Inland
Fisheries Institute, Oczapowskiego 10, 10-719 Olsztyn, Poland
e-mail: m.rozynski@infish.com.pl

K. Demska-Zakęś · A. Sikora
Department of Ichthyology, Faculty of Environmental Sciences,
University of Warmia and Mazury, Oczapowskiego 5,
10-719 Olsztyn, Poland

Intense production in RAS requires frequent handling (i.e., controlled spawning, tagging, transporting, sorting, taking monitoring measurements, stocking tanks). All of these stress-inducing procedures can negatively impact the health status of fish (Falahatkar and Barton 2007). Anesthetics are used to reduce the impact of stress on fish, and the use of them in aquaculture is becoming increasingly common (Husen and Sharma 2014). Anesthetics are used with percids, for example, to separate larval individuals with inflated swim bladders from those with uninflated swim bladders (Kestemont et al. 2015b), and they are also used when collecting sex products during controlled spawning (Zakęś et al. 2013; Alavi et al. 2015).

Various anesthetics have been tested to induce general anesthesia in perch, including Propiscin (*Etomidatum*, IFI (Inland Fisheries Institute), Olsztyn), MS-222 (*Tricaine methanesulfonate*, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), clove oil (*Oleum Caryophyllorum*), and 2-phenoxyethanol (*Phenoxyethanolum*). Among the anesthetics tested to date on perch, MS-222 and Propiscin are recommended (Hamáčková et al. 2001; Velisek et al. 2009). Propiscin is a stable 0.2% etomidate solution (Kazuń and Siwicki 2012) that is effective in inducing anesthesia in fish species such as rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), carp (*Cyprinus carpio*), grass carp (*Cteropharyngodon idella*), and grayling (*Thymallus thymallus*) (Kazuń and Siwicki 2012; Witeska et al. 2015). Propiscin has been tested on perch by Hamáčková et al. (2001) and Velisek et al. (2009); however, these studies did not provide a complete picture of the impact this anesthetic has on the bodies of the fish. The Propiscin concentration applied most commonly is 1.5–2 ml l⁻¹, but the only concentration tested in the studies mentioned above was 1 ml l⁻¹. Additionally, these studies do not describe the effect this anesthetic has on the hematological profile, while the described effect that using Propiscin has on the biochemical profile is incomplete. Assessing hematological and biochemical parameters is a key tool in assessing the health and condition vertebrates, which includes fish (Collins et al. 2016). Performing a complete blood count is a basic diagnostic procedure. Assessing the levels and ranges of, inter alia, hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), erythrocytes, leukocytes, and thrombocytes permits detecting anemia, inflammation, infection, or other disease processes (Clauss et al. 2008). Complete blood counts are also often used in toxicity studies of various substances (Javed and Usmani 2015). Biochemical parameters are

also very useful in assessing the physiological state of living organisms, and they facilitate monitoring the functioning of many organs (e.g., liver, kidney, heart) and glands, nutritional status, or systemic hydration (e.g., total protein (TP), magnesium (Mg), calcium (Ca)), and the occurrence of the stress phenomenon (e.g., glucose (GLU), lactate (LACT)) (Haluzova et al. 2010; Brinn et al. 2012; Rożyński et al. 2017).

The aim of the study was to describe the course and timing of the various stages of anesthesia induced with Propiscin (etomidate) in juvenile perch and to determine the impact that immersing specimens of this species in an aqueous solution of anesthetic had on selected hematological and biochemical indicators.

Materials and methods

Fish—origin, rearing conditions

The study material was obtained by collecting fertilized perch eggs from spawning grounds during the natural spawning period of this species (early April) in Lake Dgał Wielki (Masurian Lake District, northeastern Poland). The eggs were placed in an earthen pond with a surface area of 0.2 ha (Department of Sturgeon Fish Breeding, Inland Fisheries Institute in Olsztyn, northeastern Poland (IFI Olsztyn)). The fish were reared in the pond to the summer fry stage (body weight (BW) approximately 0.2 g) on natural food. In mid-June, the fry were collected from the pond and placed in a RAS (two tanks with a cubic volume of 2 m³). After the fry were moved to the RAS, they were trained to consume formulated feed (Nutra, Nutreco, Trouvit, France). The feeding regime applied during the initial rearing period was based on principles described by Policar et al. (2015). When the fry had attained a BW of 10 g, approximately 500 specimens were transported (polyethylene bags, 20-l water + 20-l oxygen, transport time—2 h) to the Department of Aquaculture (IFI Olsztyn). The fish were stocked into culture tanks in a RAS, which was an experimental setup equipped with, inter alia, rearing tanks with a volume of 200 l and biological filters containing RK BioElements (RK Plast, Denmark) (Z. Zakęś, unpublished materials). During rearing in the RAS, optimal physical and chemical rearing parameters were maintained: water temperature—19.7 ± 0.1 °C; pH range—7.80–8.01; oxygenation at the rearing tank outflows did not decrease below 7.3 mg O₂ l⁻¹; the total ammonia nitrogen concentration

(TAN = $\text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NH}_3\text{-N}$) measured at the rearing tank outflows did not exceed $0.2 \text{ mg TAN l}^{-1}$, and that of nitrites ($\text{NO}_2\text{-N}$) did not exceed $0.1 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$. The fish were fed with an automatic band feeder (Fischtechnik GmbH, Nienburg, Germany), and the feed was delivered continually for 19 h day^{-1} (10:00–05:00). During the rearing period, the fish were fed T-T Nutra MP feed (Skretting, the Netherlands) with a composition of protein—52%, crude fat—20%, carbohydrate—9.5%, crude fiber—0.5%, and an energy value of 19.9 MJ/kg .

Experimental procedure

Two experiments were conducted. Experiment I focused on determining the time required to induce general anesthesia and the different stages of general anesthesia during immersion in an aqueous solution of Propiscin (etomidate) at two different concentrations (1 and 2 ml l^{-1}). The procedure used was that described by Hamáčková et al. (2001) and Kazuń and Siwicki (2001). The fish used in the study had a mean BW of $162.98 \pm 29.40 \text{ g}$ and a body length (SL) of $20.8 \pm 1.2 \text{ cm}$. They were divided into two groups of ten specimens each ($n = 10$). All specimens were immersed for 10 min in an immersion bath containing an aqueous solution of Propiscin, but each group was exposed to different concentrations (group PROP1— 1 ml l^{-1} , group PROP2— 2 ml l^{-1}) of the anesthetic. Immersion was conducted in 20-l containers filled with the etomidate solution mixed with water from the RAS collected at the outflows of the rearing tanks. The temperature of the immersion bath was similar to that maintained in the RAS throughout the rearing period. During the induction of general anesthesia, a stopwatch was used to time how long each fish took to reach subsequent stages of anesthesia ($\pm 0.1 \text{ s}$; Table 1). After 10 min, the anesthetized fish were moved to a tank of fresh, oxygenated water from the RAS. Next, the course of recovery and the time required to reach subsequent stages of recovery from general anesthesia were observed (Table 1). The fish were immersed individually after the preceding specimen had fully recovered.

In experiment II, the effect of immersion in the aqueous solution of Propiscin at two different concentrations (1 and 2 ml l^{-1}) and for two different periods (3 and 10 min) on the hematological and biochemical indicators of perch blood (BW = $171.60 \pm 39.00 \text{ g}$; SL = $21.9 \pm 1.4 \text{ cm}$) was determined. The fish were divided into nine groups (eight experimental groups and one

control group) of seven specimens each ($n = 7$) (Table 2). Immersion was conducted in 20-l containers filled with the etomidate solutions mixed with water from the RAS with the following physical and chemical parameters: water temperature— $21.4 \text{ }^\circ\text{C}$, oxygen concentration— $8.31 \text{ mg O}_2 \text{ l}^{-1}$, water pH—8.11, electrolytic conductivity— $446 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$, and general hardness— $295.9 \text{ CaCO}_3 \text{ l}^{-1}$. The methodology for immersing and collecting blood samples was similar to that described by Velisek et al. (2009, 2011). Blood samples (approximately 2 ml) were drawn from each fish specimen from four groups immediately after immersion ended (0 h). All manipulations were completed with each fish specimen before the procedure was begun with the subsequent specimen. However, with the four subsequent groups, for which the immersion regime was identical, immersion was conducted in groups under similar conditions. Next, each of these groups was placed in a separate tank in the RAS. Blood was drawn from the fish in these groups 24 h after the conclusion of immersion (Table 2). The control group comprised specimens that were immersed in RAS water (without anesthetic) in a container of the same volume as was used in the experimental groups. Blood was drawn from all specimens with pre-heparinized syringes (Smiths Medical, Minneapolis, USA) from the tail vein. After collection, the blood was analyzed in a semi-automatic BC2800Vet hematological apparatus (Mindray, Shenzhen, China). Some of the blood samples were centrifuged (4000 rpm; $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 3 min; Fresco 17, Thermo Scientific, Waltham, USA) and subjected to biochemical analysis in an automatic BS120 apparatus (Mindray, Shenzhen, China). The most important hematological parameters were selected for analysis, as follows: white blood cell count (WBC), red blood cell count (RBC), platelet count (PLT), HGB, HCT, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC). The following biochemical parameters were determined as follows: creatinine (CREA), TP, total bilirubin (BIL-T), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), albumin (ALB), globulin (GLB), GLU, Ca, Mg, chloride (Cl), LACT, ammonia (NH_3).

Statistical analysis

The results were analyzed statistically with the Statistica 12 computer program (StatSoft, Inc., USA). The data were

Table 1 Description of the different phases of the induction of and recovery from general anesthesia in fish (after Hamáčková et al. 2001; Kazuń and Siwicki 2001)

Activity	Phase	Phase description
Anesthesia	Phase I Quiet behavior	Physiological position
		Regular respiratory motion
		Normal locomotor activity
		Effortless evading obstacles when swimming
	Phase II Excitation	Physiological position
		Restlessness
		Fast swimming
		Not evading the obstacles when swimming
	Phase IIIA Total anesthesia (superficial)	Strong withdrawal reflex
		Shallow, irregular respiratory motion
		Slight tilting on the flank
		Decreased activity
	Phase IIIB Total anesthesia (complete)	Weakened or no withdrawal reflex
		Respiratory motions regular, slower and deep
		Flank position
		Loss of motility
Anesthesia recovery	Phase IV Respiration block	None of the withdrawal reflexes but the acoustic one
		Respiratory motions regular, deep, retarding
		Flank position
		Respiratory motions blocked or superficial to involuting
	Phase I	No withdrawal reflex, neither the acoustic one
		Flank position
		Regular respiration
		Acoustic reflex
	Phase II	Flank position changed to physiological one
		Uncoordinated motions
		Regular respiration
		Physiological position
	Phase III	Slow swimming initiated
		Uncoordinated motions
		Not evading the obstacles when swimming
		Physiological position
	Phase IV	Normal locomotor activity
		Normal swimming
		Evading the obstacles when swimming

tested for normality of distribution (Shapiro-Wilk's W test) and homogeneity of variance (Levene's test). Statistical comparisons of data from stage I were performed with Student's t test for independent samples, while the data from stage II were compared with one-way analysis of variance (ANOVA). When statistical significance was confirmed, further statistical analysis was conducted with Tukey's test. Differences were significant at $P \leq 0.05$.

Results

Immersion in the higher concentration of Propiscin (2 ml l^{-1}) permitted inducing general anesthesia approximately twice as fast as with the 1-ml l^{-1} solution. The same was observed regarding the different stages of general anesthesia. The time required for the fish immersed in the higher anesthetic concentration to reach

Table 2 Experiment setup for the application of the anesthetic (Propiscin) to perch ($n = 7$)

Specification	Units	Control group	Experimental groups							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration	ml l ⁻¹	0	1	1	2	2	1	1	2	2
Exposure time	min	0	3	10	3	10	3	10	3	10
Sampling	h	0	0	0	0	0	24	24	24	24

the subsequent stages of anesthesia was twice as short, and the differences observed were statistically significant ($P \leq 0.05$; Fig. 1) in comparison to group PROP1. During the recovery of the fish from general anesthesia, the opposite was observed. Only during stage I of recovery from general anesthesia was the difference noted between the recovery times of the two groups significant. In group PROP2, the time to attain stage I was approximately three times longer ($P \leq 0.05$; Fig. 2). However, the time required to achieve the subsequent stages (stages II–IV) was very similar in both groups and did not differ significantly ($P > 0.05$; Fig. 2).

Among all the hematological indicators determined, significant differences were noted only immediately following immersion (0 h) and only in the case of two of the parameters. Significant increases in HCT (of approximately 19.5%) in comparison to the control

groups were noted in the fish immersed in the Propiscin solution at a concentration of 1 ml l⁻¹ for 10 min ($P \leq 0.05$; Table 3). In all experimental groups, elevated MCV levels were noted immediately after the procedure concluded (0 h). Statistically significant differences among groups were confirmed only in three of them (2 ml l⁻¹/3 min; 1 ml l⁻¹/10 min; 2 ml l⁻¹/10 min; $P \leq 0.05$; Table 3). After 24 h, the values of both parameters in all experimental groups were comparable with those of the control group.

The analysis of the biochemical indicators of blood plasma conducted immediately following the conclusion of immersion (0 h) showed statistically significant differences in five of the 14 parameters determined (Table 4). The highest increase in peripheral blood GLU levels in the fish examined was confirmed in the group subjected to the 3 min immersion at the lowest concentration of Propiscin (1 ml l⁻¹). The value of this parameter was over twice as high as that in the control groups and it differed statistically significantly from the other three experimental groups. Increased GLU levels were also confirmed in the group of fish anesthetized at the higher anesthetic concentration for the same period of time (2 ml l⁻¹/3 min) ($P \leq 0.05$; Table 4). The concentrations of GLU of the fish subjected to longer immersion times of 10 min and at both anesthetic concentrations (1 or 2 ml l⁻¹) were higher, but these differences were not significant in comparison to those of the control groups ($P > 0.05$). Twenty-four hours after the

Fig. 1 Impact of Propiscin concentration on the induction of general anesthesia in perch. Groups marked with a letter index within a given stage differ significantly statistically ($P \leq 0.05$) (mean values \pm SE)

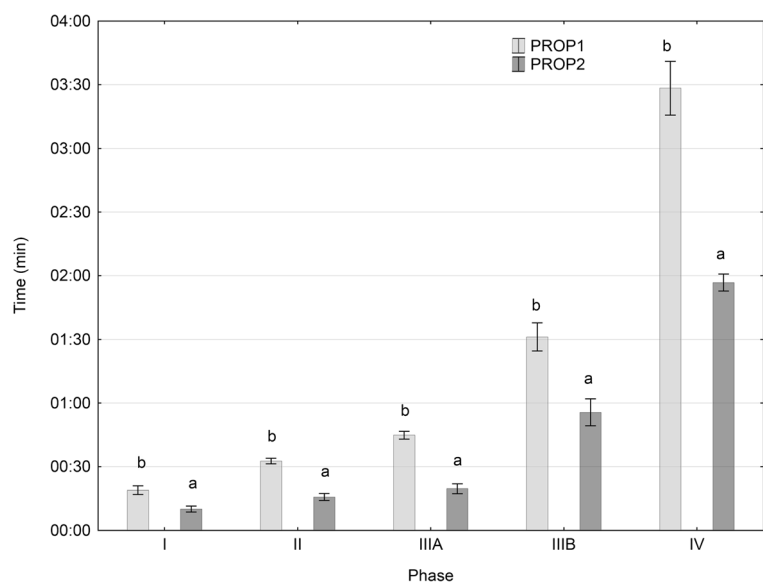
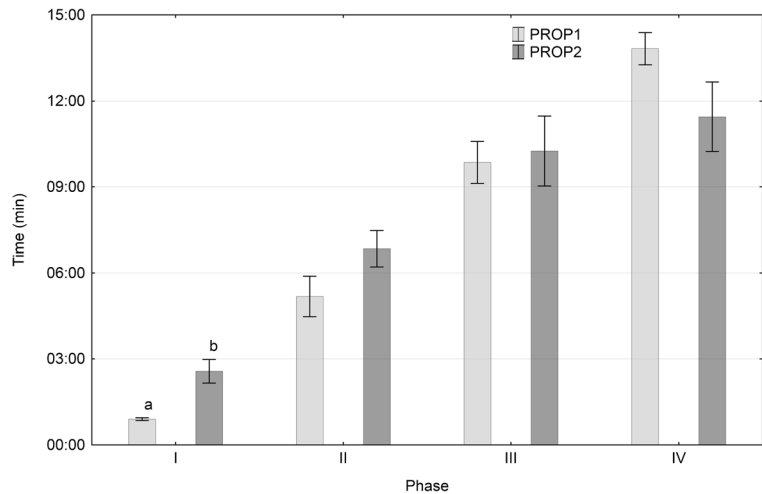


Fig. 2 Impact of Propiscin concentration on the recovery from general anesthesia in perch. Groups marked with a letter index within a given stage differ significantly statistically ($P \leq 0.05$) (mean values \pm SE)



conclusion of immersion, the concentration of GLU in the fish from all groups was similar to that in the control groups ($P > 0.05$; Table 4). At 0 h in all experimental groups, elevated blood Ca concentrations were noted; however, only in the group subjected to immersion at the lowest anesthetic concentration and for the shortest period of time (1 ml Γ^{-1} /3 min) were these differences significant ($P \leq 0.05$; Table 4), and after 24 h, the concentration of this ion returned to initial levels. No differences in blood Mg concentrations were noted immediately following the conclusion of immersion (0 h) among the various groups; however, after 24 h, a significant decrease was noted in the level of this electrolyte in the peripheral blood in two groups that were immersed in the lower concentration of anesthetic (1 ml Γ^{-1} /3 or 10 min) in comparison to that in the control groups ($P \leq 0.05$; Table 4). Significant increases in LACT concentration values in perch peripheral blood immediately following the conclusion of immersion (0 h) were confirmed in the groups exposed to the anesthetic for 3 min at both concentrations tested (1 and 2 ml Γ^{-1}) and also after the application of the anesthetic at a concentration of 1 ml Γ^{-1} for 10 min (Table 4). After 24 h, the value of this parameter in all groups was comparable to the initial value. Higher NH_3 values were observed in all four experimental groups (0 h); however, significantly higher concentrations of NH_3 (approximately twice as high as that in the control groups) were confirmed only in the group subjected to immersion in the highest anesthetic concentration and for the shortest period (2 ml Γ^{-1} /3 min). After 24 h, the concentration of NH_3 in this group did not differ from that noted in the remaining groups (Table 4).

Discussion

Using anesthetics in aquaculture facilitates handling fish faster and more efficiently while also minimizing the magnitude of losses that follow handling (Weber et al. 2009; Kazuń and Siwicki 2012). In the current study, both concentrations of Propiscin tested (1 and 2 ml Γ^{-1}) permitted inducing general anesthesia in perch in a period of time that was close to the optimum for inducing anesthesia in fish, which is approximately 3 min (Park et al. 2008). Data available in the literature regarding the induction of general anesthesia in Percidae indicate that achieving this in species of this family using Propiscin can last from 49 s (pikeperch; 1.5 ml Γ^{-1} ; 23 °C; BW = 7.88 g) to even approximately 5 min (perch; 1 ml Γ^{-1} ; 20 °C; BW = 32.20 g) (Hamáčková et al. 2001; Kristan et al. 2014). This discrepancy can be explained by the dependence between the time it takes to induce general anesthesia in fish and many factors, from the concentration of anesthetic applied, to the physicochemical parameters of the water, and the species and size of the fish being anesthetized (Son et al. 2001). In the current study, the recovery of perch from general anesthesia, in contrast to its induction, was not correlated with the concentration of Propiscin applied.

Regardless of the anesthetic used, its concentration, or the physicochemical parameters of the environment, inducing general anesthesia in fish causes them to suffer from the stress phenomenon (Simon et al. 1983). The changes in peripheral blood parameters in perch observed in this study suggest that immersing them in an aqueous solution of Propiscin causes minor stress. As a result of the body's elevated oxygen requirements, the

Table 3 Impact of general anesthesia induced by immersion in a Propiscin bath (anesthetic concentration of 1 or 2 ml l⁻¹/immersion time 3 or 10 min) on the hematological profile of perch blood (mean value (± SE)) (n = 7). Details are provided in “Materials and methods”

Specification	Units	Control group	Time (0 h)				Time (24 h)			
			1 ml/3 min	2 ml/3 min	1 ml/10 min	2 ml/10 min	1 ml/3 min	2 ml/3 min	1 ml/10 min	2 ml/10 min
WBC	10 ³ μl ⁻¹	95.76 (± 3.67)	107.78 (± 3.33)	121.09 (± 4.09)	114.07 (± 6.53)	128.08 (± 11.83)	113.93 (± 11.41)	112.31 (± 3.88)	103.39 (± 7.62)	118.33 (± 6.18)
RBC	10 ⁶ μl ⁻¹	1.47 (± 0.07)	1.64 (± 0.10)	1.58 (± 0.06)	1.61 (± 0.07)	1.61 (± 0.10)	1.52 (± 0.12)	1.62 (± 0.04)	1.53 (± 0.09)	1.65 (± 0.06)
HGB	g l ⁻¹	28.06 (± 1.40)	31.28 (± 1.43)	33.46 (± 1.07)	31.11 (± 1.52)	30.30 (± 2.05)	28.67 (± 1.92)	33.55 (± 1.68)	28.58 (± 1.45)	30.41 (± 2.02)
HCT	%	29.30 (± 1.35) ^a	34.06 (± 1.64) ^{ab}	35.74 (± 1.13) ^{ab}	36.39 (± 1.09) ^b	36.05 (± 1.91) ^{ab}	29.70 (± 1.91) ^{ab}	33.60 (± 1.10) ^{ab}	30.49 (± 1.58) ^{ab}	32.54 (± 1.44) ^{ab}
MCV	fl	148.24 (± 2.48) ^a	154.67 (± 3.19) ^{ab}	168.23 (± 1.92) ^b	168.89 (± 3.46) ^b	168.10 (± 5.03) ^b	146.13 (± 5.02) ^a	154.04 (± 1.89) ^{ab}	148.31 (± 1.84) ^a	147.23 (± 6.11) ^a
MCH	pg	31.34 (± 1.07)	31.40 (± 1.08)	34.87 (± 1.39)	31.94 (± 1.66)	31.50 (± 2.25)	31.31 (± 1.93)	33.86 (± 1.02)	30.71 (± 0.76)	30.36 (± 2.07)
MCHC	g l ⁻¹	211.71 (± 4.95)	203.14 (± 3.48)	207.29 (± 5.63)	188.57 (± 6.85)	186.00 (± 8.18)	213.29 (± 6.10)	219.86 (± 4.1)	207.14 (± 3.46)	205.43 (± 6.34)
PLT	10 ³ μl ⁻¹	16.57 (± 3.32)	19.57 (± 1.81)	19.71 (± 2.35)	19.43 (± 3.95)	19.67 (± 2.7)	40.86 (± 24.69)	17.86 (± 3.35)	16.00 (± 0.76)	22.29 (± 1.90)

Groups in rows marked with a different letter index differ significantly statistically ($P \leq 0.05$)

amount of HGB increases in the erythrocytes to increase the transport of oxygen molecules to different tissues and organs. Evidence of this is seen in the elevated values of MCV and HCT and increased levels of HGB, although these were insignificant (Rutten et al. 1992). Stress in perch only occurred during immersion in anesthetic, because 24 h after the conclusion of this procedure in all groups, these parameters were noted to have returned to initial values. Similar reactions to immersion in an aqueous solution of etomidate (Propiscin; 1.5 ml l⁻¹; 10 min; 20.5–20.7 °C) were not observed in juvenile pikeperch (BW = 71.48 g). Nevertheless, significantly higher values of mean corpuscular HGB concentrations were noted both immediately following immersion and 24 h after it (Kristan et al. 2012). In perch, similarly to the other hematological indicators, they were comparable to those confirmed in the control group (this study).

Biochemical blood tests are good indicators of anesthetic quality, since they deliver much valuable information regarding the physiological state of animals and the occurrence of stress in their bodies (Barcellos et al. 2003). One important biochemical indicator is GLU. Increased levels of this monosaccharide in perch peripheral blood is probably a consequence of the release into the blood of catecholamines (inter alia, adrenaline) and cortisol that accompany the impact that stressors (in this case, an anesthetic) have on bodies (Simon et al. 1983). Comparing the results obtained from different groups of perch studied, one can conclude that only the first few minutes of immersion in Propiscin impacts blood GLU levels. After this period, the concentration of this compound in perch peripheral blood decreases. Analyzing the results of blood GLU levels in two groups of fish that were subjected to immersion for 3 min, one can conclude that the faster general anesthesia is induced, the lower the level of stress experienced by the fish is. Among juvenile pikeperch (BW = 189.89 g) that were anesthetized in an aqueous solution of etomidate (Propiscin; 1 or 2 ml l⁻¹/2 or 10 min; 21.3 °C), elevated GLU levels were observed only after 10 min of immersion, and this was regardless of the anesthetic concentration applied. However, in this study as well, 24 h later, the level of this saccharide in the peripheral blood of the studied fish had returned to the initial values (Rożyński et al. 2016). However, among adult vimba bream (*Vimba vimba*) (BW = 339.21 g), which were placed under general anesthesia using Propiscin (1 ml l⁻¹; 10 min; 17.6–18.2 °C), elevated blood GLU levels were observed to persist even longer than 24 h after the conclusion of immersion (Lepic et al. 2014).

Table 4 Impact of general anesthesia induced by immersion in a Propisicin bath (anesthetic concentration 1 or 2 ml l⁻¹/immersion time 3 or 10 min) on the biochemical profile of perch blood (mean value (± SE)) (*n* = 7). Details are provided in “[Materials and methods](#)”

Specification	Units	Control group	Time (0 h)				Time (24 h)			
			1 ml/3 min	2 ml/3 min	1 ml/10 min	2 ml/10 min	1 ml/3 min	2 ml/3 min	1 ml/10 min	2 ml/10 min
BIL-T	mg dl ⁻¹	0.11 (± 0.04)	0.11 (± 0.01)	0.11 (± 0.01)	0.18 (± 0.05)	0.18 (± 0.04)	0.09 (± 0.01)	0.11 (± 0.02)	0.09 (± 0.01)	0.16 (± 0.03)
ALT	U l ⁻¹	24.00 (± 8.14)	14.20 (± 4.53)	21.86 (± 6.49)	19.71 (± 3.28)	26.71 (± 8.40)	15.71 (± 5.06)	22.00 (± 5.2)	8.86 (± 2.34)	9.14 (± 2.55)
ALP	U l ⁻¹	39.86 (± 3.38)	49.00 (± 2.16)	44.71 (± 4.60)	45.14 (± 2.60)	43.00 (± 5.54)	46.00 (± 5.67)	43.33 (± 5.15)	36.29 (± 3.56)	42.71 (± 2.00)
AST	U l ⁻¹	175.57 (± 43.05)	114.20 (± 15.18)	131.71 (± 42.24)	142.29 (± 22.81)	165.43 (± 54.86)	103.43 (± 37.72)	183.00 (± 35.28)	57.00 (± 16.22)	95.00 (± 20.96)
TP	g dl ⁻¹	4.03 (± 0.20)	4.54 (± 0.12)	4.60 (± 0.27)	4.24 (± 0.20)	4.27 (± 0.30)	3.83 (± 0.31)	4.49 (± 0.16)	3.98 (± 0.14)	4.26 (± 0.14)
ALB	g dl ⁻¹	1.40 (± 0.06)	1.55 (± 0.02)	1.52 (± 0.05)	1.51 (± 0.05)	1.47 (± 0.08)	1.42 (± 0.11)	1.61 (± 0.09)	1.46 (± 0.04)	1.56 (± 0.04)
GLB	g dl ⁻¹	2.64 (± 0.14)	2.99 (± 0.10)	3.08 (± 0.22)	2.72 (± 0.17)	2.80 (± 0.23)	2.41 (± 0.21)	2.87 (± 0.07)	2.52 (± 0.10)	2.71 (± 0.10)
GLU	mg dl ⁻¹	100.00 (± 8.91) ^{ac}	229.20 (± 14.37) ^d	156.43 (± 9.22) ^b	125.00 (± 7.24) ^{bc}	116.86 (± 7.94) ^{ab}	82.71 (± 8.97) ^a	89.50 (± 3.64) ^{ac}	79.14 (± 2.47) ^a	100.57 (± 11.74) ^{ac}
Ca	mg dl ⁻¹	10.52 (± 0.27) ^a	12.30 (± 0.23) ^b	12.17 (± 0.35) ^{ab}	11.09 (± 0.43) ^{ab}	11.66 (± 0.24) ^{ab}	9.80 (± 0.78) ^a	10.90 (± 0.16) ^{ab}	10.44 (± 0.18) ^{ab}	11.31 (± 0.35) ^{ab}
Mg	mg dl ⁻¹	2.88 (± 0.13) ^b	2.95 (± 0.04) ^b	3.10 (± 0.10) ^b	2.91 (± 0.08) ^b	2.96 (± 0.12) ^b	2.37 (± 0.17) ^a	2.69 (± 0.15) ^{ab}	2.37 (± 0.03) ^a	3.03 (± 0.07) ^b
Cl ⁻	mmol/l	243.27 (± 14.83) ^{ab}	273.80 (± 10.78) ^b	270.53 (± 11.24) ^b	246.34 (± 14.04) ^{ab}	259.67 (± 11.37) ^{ab}	207.27 (± 21.99) ^a	249.65 (± 7.21) ^{ab}	225.49 (± 7.18) ^{ab}	249.74 (± 14.98) ^{ab}
LACT	mg dl ⁻¹	6.59 (± 1.28) ^{ab}	29.36 (± 0.40) ^d	27.61 (± 0.65) ^d	20.71 (± 1.25) ^{cd}	16.96 (± 1.17) ^{abcd}	7.54 (± 1.71) ^{ac}	3.65 (± 0.24) ^a	3.74 (± 0.56) ^a	18.33 (± 8.39) ^{bcd}
CREA	mg dl ⁻¹	0.45 (± 0.06) ^{ac}	0.22 (± 0.03) ^a	0.34 (± 0.05) ^{ab}	0.53 (± 0.09) ^{bc}	0.63 (± 0.08) ^c	0.43 (± 0.08) ^{ac}	0.50 (± 0.06) ^{ac}	0.29 (± 0.03) ^a	0.40 (± 0.03) ^{ac}
NH ₃	μg dl ⁻¹	78.83 (± 5.84) ^{ac}	104.74 (± 6.20) ^{cd}	143.49 (± 11.66) ^d	109.43 (± 14.05) ^{cd}	102.83 (± 6.59) ^c	70.91 (± 8.27) ^{ac}	78.02 (± 8.67) ^{ac}	59.46 (± 2.39) ^a	81.23 (± 10.67) ^{ac}

Groups in rows marked with a different letter index differ significantly statistically (*P* ≤ 0.05)

Elevated LACT concentrations in the peripheral blood were observed in perch immediately after immersion in Propiscin ended, which also indicates the occurrence of the phenomenon of stress (Mushtaq et al. 2014). Stress leads to increased energy expenditures in the body and increases oxygen requirements substantially. Since the oxygen delivery system (erythrocytes) is often unable to meet this demand, glycolysis occurs in cells under anaerobic conditions, which results in the release of lactic acid from the muscles. Comparing our findings to those from studies of other fish, one can conclude that the perch response to the induction of general anesthesia with Propiscin is conditioned by factors that are particular to this species. For example, this parameter was not noted to have increased in juvenile pikeperch (BW = 71.48 g) following immersion in a solution of etomidate (Propiscin; 1.5 ml l⁻¹/10 min; 20.5–20.7 °C), while after rainbow trout had been immersed a decrease in the level of LACT in the peripheral blood was noted (Velisek et al. 2011; Kristan et al. 2012). The analysis of Mg levels in the blood of perch also permits concluding that the induction of general anesthesia in this species causes a stress reaction. Mg plays a number of important functions in the body such as participating in GLU transport, producing energy, and impacting nerve impulse transmission and the muscles (contracting and relaxing) (Bijvelds et al. 1998). As was previously mentioned, the stress hormones adrenalin and cortisol stimulate the body, increase energy demand, and trigger a number of enzymatic and biochemical reactions. Mg plays a role in many of these, which, consequently, can lead to deficits and even depletion of this ion. This phenomenon of decreased Mg was noted in perch 24 h after the conclusion of immersion in Propiscin (especially at the concentration of 1 ml l⁻¹). However, immediately after exposure (0 h), the concentration of this electrolyte was comparable to that of the control group. In pikeperch (BW = 189.89 g), elevated blood levels of this ion were noted immediately after immersion (0 h) in the anesthetic solution regardless of its concentration or the length of the immersion (Rożyński et al. 2016). Nevertheless, after 24 h, these levels returned to values that were comparable to the control group. Kristan et al. (2012) report yet another situation in juvenile pikeperch (BW = 71.48 g) noting that there was no significant change in the concentration of this electrolyte during general anesthesia induced with Propiscin. The opposite reaction described above (blood Mg concentration) to the induction of general anesthesia using Propiscin in those fish probably stemmed from the different sizes of the fish used in the study.

In one of the perch groups (1 ml l⁻¹/3 min), elevated Ca ions were noted immediately after immersion (0 h). Rożyński et al. (2016) observed a similar phenomenon in all groups of pikeperch (BW = 189.89 g) they studied; however, in the studies of both pikeperch and perch, Ca levels returned to initial levels after 24 h. However, Kristan et al. (2012) did not observe any significant changes in this parameter during the induction of general anesthesia in pikeperch (BW = 71.48 g) using Propiscin. Elevated levels of NH₃ in perch observed in the current study immediately after the conclusion of immersion (0 h) could have been caused by augmented protein catabolism or disruptions in the excretion of this metabolite from the system (Svoboda 2001). Similar observations of elevated NH₃ levels immediately following the conclusion of immersion were reported for juvenile pikeperch with BW = 189.89 g (Rożyński et al. 2016). In turn, slight decreases in NH₃ levels were noted in smaller pikeperch (BW = 71.48 g) immediately following the completion of immersion, but 24 h later, these levels were more than three times lower than those in the control groups (Kristan et al. 2012). Higher peripheral blood NH₃ concentrations were also confirmed in vimba bream (BW = 339.21 g); however, observations of this species were not done until 24 h after the completion of immersion in Propiscin (Lepic et al. 2014). In turn, Velisek et al. (2009) did not note any changes at all in NH₃ concentrations in perch (BW = 47.20 g) during the induction of general anesthesia in an aqueous solution of Propiscin (1 ml l⁻¹/10 min; 20.0–20.2 °C). The information above indicates that the reaction of fish to a given anesthetic exhibits not only a great degree of species specificity, but that reactions can also be specific to given ontogenetic developmental stages.

Conclusions

Taking into consideration the anesthesia recovery rates of the fish and recovery times, the low intensity of stress reactions, and the 100% fish survival rate following the procedure, it is justified to recommend using a Propiscin solution at a concentration of 2 ml l⁻¹ during rearing procedures that require anesthetizing this species. Additionally, the hematological and biochemical tests performed also permit concluding that the anesthetic tested at the concentrations tested (1 and 2 ml l⁻¹) is safe and can be used successfully to induce general anesthesia.

Funding information This study was financed as part of statutory topic S-028 of the Inland Fisheries Institute in Olsztyn.

Compliance with ethical standards The research presented in the submitted manuscript has been conducted in accordance with ethical standards (Agreement No. 35/2017, 30.05.2017).

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

References

- Alavi SMH, Ciereszko A, Hatf A, Křišťan J, Dzyuba B, Boryshpolets S, Rodina M, Cosson J, Linhart O (2015) Sperm morphology, physiology, motility, and cryopreservation in Percidae. In: Kestemont P, Dabrowski K, Summerfelt RC (eds) Biology and culture of percid fishes—principles and practices. Springer Netherlands, Dordrecht 163–191. doi: <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7227-3>
- Barcellos LJ, Kreutz LC, Rodrigues LB, Fioreze I, Quevedo RM, Cericato L, Conrad J, Soso AB, Fagundes M, de Almeida Lacerda L, Terra S (2003) Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard *Pimelodidae*): changes after acute stress. Aquac Res 34:1465–1469. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2003.00972.x>
- Bijvelds MJ, Velden JA, Kolar ZI, Flik G (1998) Magnesium transport in freshwater teleosts. J Exp Biol 201:1981–1990
- Brinn RP, Marcon JL, Gomes DM, Abreu LC, Baldisserotto B (2012) Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. hystrix*) during transportation in the Amazon region of the Rio Negro. Comp Biochem Physiol A 162:139–145. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.07.004>
- Clauss T, Dove A, Arnold J (2008) Hematologic disorders of fish. Vet Clin North Am Exot Anim Pract 11:445–462. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007>
- Collins S, Dornburg A, Flores JM, Dombrowski DS, Lewbart GA (2016) A comparison of blood gases, biochemistry, and hematology to ecomorphology in a health assessment of pinfish (*Lagodon rhomboides*). PeerJ 4:e2262. <https://doi.org/10.7717/peerj.2262>
- Falathkar B, Barton BA (2007) Preliminary observations of physiological responses to acute handling and confinement in juvenile beluga (*Huso huso*). Aquac Res 38:1786–1789
- Hamáčková J, Sedova MA, Pjanova SV, Lepičová A (2001) The effect 2-phenoxyethanol, clove oil and Propiscin anaesthetics on perch (*Perca fluviatilis*) in relation to water temperature. Czech J Anim Sci 46(11):469–473
- Haluzova I, Modra H, Blahova J, Marsalek P, Siroka Z, Groch L, Svobodova Z (2010) Effects of subchronic exposure to Spartakus (prochloraz) on common carp *Cyprinus carpio*. Neuroendocrinol Lett 31:105–113
- Husen A, Sharma S (2014) Efficacy of anesthetics for reducing stress in fish during aquaculture practices—a review. KUSSET 10:104–123
- Javed M, Usmani N (2015) Impact of heavy metal toxicity on hematology and glycogen status of fish: a review. Proc Natl Acad Sci 85:889–900. <https://doi.org/10.1007/s40011-014-0404-x>
- Kazuń K, Siwicki AK (2001) Zastosowanie preparatu Propiscin do znieczulenia ogólnego i transportu ryb (Applying Propiscin to induce general anesthesia in fish and for fish transport). Wyd. IRS, Olsztyn, 19pp
- Kazuń K, Siwicki AK (2012) Propiscin—a safe new anaesthetic for fish. Arch Pol Fish 20:173–177. <https://doi.org/10.2478/v10086-012-0021-3>
- Kestemont P, Dabrowski K, Summerfelt RC (2015a) Biology and culture of percid fishes—principles and practices. Springer Netherlands, Dordrecht:417–435. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7227-3>
- Kestemont P, Mélard C, Held JA, Dabrowski K (2015b) Culture methods of Eurasian perch and yellow perch early life stages. In: Kestemont P, Dabrowski K, Summerfelt RC (eds) Biology and culture of percid fishes—principles and practices. Springer Netherlands, Dordrecht 265–293. doi: <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7227-3>
- Kristan J, Stara A, Polgesek M, Drasovean A, Kolarova J, Priborsky J, Blecha M, Svacina P, Policar T, Velisek J (2014) Efficacy of different anaesthetics for pikeperch (*Sander lucioperca* L.) in relation to water temperature. Neuroendocrinol Lett 35:81–85
- Kristan J, Stara A, Turek J, Policar T, Velisek J (2012) Comparison of the effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). Neuroendocrinol Lett 33(3):66–71
- Lepic P, Stara A, Turek J, Kozak P, Velisek J (2014) The effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in vimba bream, *Vimba vimba*. Vet Med 59:81–87
- Mushtaq MY, Marçal RM, Champagne DL, van der Kooy F, Verpoorte R, Choi YH (2014) Effect of acute stresses on zebra fish (*Danio rerio*) metabolome measured by NMR-based metabolomics. Planta Med 80:1227–1233. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1382878>
- Park MO, Hur WJ, Im SY, Seol DW, Lee J, Park IS (2008) Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil-anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. Aquac Res 39:877–884. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01941.x>
- Policar T, Samarin AM, Mélard C (2015) Culture methods of Eurasian perch during on-growing. In: Kestemont P, Dabrowski K, Summerfelt RC (eds) Biology and culture of percid fishes—principles and practices. Springer Netherlands, Dordrecht 417–435
- Rożyński M, Kapusta A, Demska-Zakęś K, Ziomek E, Szczerbowski A, Stawecki K, Zakęś Z (2017) Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*). Arch Pol Fish 25:89–101. <https://doi.org/10.1515/aopf-2017-0009>
- Rożyński M, Ziomek E, Demska-Zakęś K, Kowalska A, Zakęś Z (2016) Propiscin—a safe anaesthetic for pikeperch (*Sander lucioperca* L.). Acta Vet Hung 64(4):415–424. <https://doi.org/10.1556/004.2016.039>

- Rutten AA, Falke HE, Catsburg JF, Wortelboer HM, Blaauboer BJ, Doorn L, van Leeuwen FX, Theelen R, Rietjens IM (1992) Interlaboratory comparison of microsomal ethoxyresorufin and pentoxyresorufin O-dealkylation determination. Standardization of assay conditions. *Arch Toxicol* 66:237–244
- Simon LM, Nemcsok J, Boross L (1983) Studies on the effect of paraquat on glycogen mobilization in liver of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comp Biochem Physiol* 75C: 167–169
- Son MH, Park MW, Myeong JI, Kim DJ, Kim BH, Jo QT, Jeon IG (2001) Anaesthetic tolerance of juvenile black rockfish *Sebastes schlegeli*, produced for wild stock enhancement. *Ocean. Polar Res* 23:285–290
- Svoboda M (2001) Stress in fish—review. *Bull. RIFCH Vodnany* 37:169–191
- Toner D, Rougeot C (2008) Farming of Eurasian perch: vol. 1: juvenile production. *Aquaculture explained* 1, Dublin, 80pp
- Velisek J, Stara A, Li Z, Silovska S, Turek J (2011) Comparison of the effects of four anaesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Aquaculture* 310:369–375. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.010>
- Velisek J, Stejskal V, Kouřil J, Svobodová Z (2009) Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch. *Aquac Res* 40:354–361. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02102.x>
- Weber RA, Peleteiro JB, García Martín LO, Aldegunde M (2009) Efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). *Aquaculture* 288:147–150. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.11.024>
- Witeska M, Dudyk J, Jarkiewicz N (2015) Haematological effects of 2-phenoxyethanol and etomidate in carp (*Cyprinus carpio* L.) *Vet Anaesth Analg* 42:537–546. <https://doi.org/10.1111/vaa.12242>
- Zakęś Z, Szczepkowski M, Partyka K, Wunderlich K (2013) Effect of gonadotropin hormonal stimulation on out-of-season propagation success of different year classes of indoor-reared pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)). *Aquac Int* 21:801–810. <https://doi.org/10.1007/s10499-012-9562-0>

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Hopko M., Sikora A., Zakęś Z. 2017 – The effects of surgically implanted dummy tags on the survival, growth performance, and physiology of pikeperch (*Sander lucioperca*) – Fish Physiol. Biochem., 43: 999-1010,

mój indywidualny wkład w opracowanie koncepcji, wykonanie części eksperymentalnej, opracowanie i interpretację wyników, zbieranie piśmiennictwa i przygotowanie manuskryptu wyżej wymienionej publikacji, składającej się na rozprawę doktorską wyniósł **50%**.

mgr inż. Maciej Rożyński

05.06.2020 Maciej Rożyński

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Hopko M., Sikora A., Zakęś Z. 2017 – The effects of surgically implanted dummy tags on the survival, growth performance, and physiology of pikeperch (*Sander lucioperca*) – Fish Physiol. Biochem., 43: 999-1010,

mój udział procentowy wyniósł **10%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☒

analiza statystyczna

☐

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

dr inż. Andrzej Kapusta

5.01.2020 *Andrzej Kapusta*

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Hopko M., Sikora A., Zakęś Z. 2017 – The effects of surgically implanted dummy tags on the survival, growth performance, and physiology of pikeperch (*Sander lucioperca*) – Fish Physiol. Biochem., 43: 999-1010,

mój udział procentowy wyniósł **10%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☒

pisanie pracy

☒

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☐

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☒

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

prof. dr hab. Krystyna Demska-Zakęś

01.06.2020 Demska-Zakęś K.
data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Hopko M., Sikora A., Zakęś Z. 2017 – The effects of surgically implanted dummy tags on the survival, growth performance, and physiology of pikeperch (*Sander lucioperca*) – Fish Physiol. Biochem., 43: 999-1010,

mój udział procentowy wyniósł **5%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☒

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☐

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☐

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

mgr inż. Marek Hopko

05/06/2020 *Marek Hopko*

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Hopko M., Sikora A., Zakęś Z. 2017 – The effects of surgically implanted dummy tags on the survival, growth performance, and physiology of pikeperch (*Sander lucioperca*) – Fish Physiol. Biochem., 43: 999-1010,

mój udział procentowy wyniósł **5%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☒

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☐

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☐

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

mgr Agnieszka Sikora

03.06.2020 Agnieszka Sikora

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Hopko M., Sikora A., Zakęś Z. 2017 – The effects of surgically implanted dummy tags on the survival, growth performance, and physiology of pikeperch (*Sander lucioperca*) – Fish Physiol. Biochem., 43: 999-1010,

mój udział procentowy wyniósł **20%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

<input type="checkbox"/> koncepcja pracy, postawienie hipotez	<input checked="" type="checkbox"/> pisanie pracy
<input type="checkbox"/> zaplanowanie badań wybór metodyki badań	<input type="checkbox"/> graficzne przedstawienie wyników
<input checked="" type="checkbox"/> prowadzenie badań	<input type="checkbox"/> zbieranie piśmiennictwa
<input type="checkbox"/> zbieranie danych	<input checked="" type="checkbox"/> konsultacja i opieka
<input type="checkbox"/> analiza statystyczna	<input checked="" type="checkbox"/> korekta pracy przed złożeniem do druku
<input checked="" type="checkbox"/> interpretacja wyników	<input type="checkbox"/> zdobywanie środków finansowych

prof. dr hab. Zdzisław Zakęś

05.06.20 Z. Zakęś
data i podpis

The effects of surgically implanted dummy tags on the survival, growth performance, and physiology of pikeperch (*Sander lucioperca*)

Maciej Rożyński · Andrzej Kapusta · Krystyna Demska-Zakęś · Marek Hopko · Agnieszka Sikora · Zdzisław Zakęś

Received: 25 November 2016 / Accepted: 12 January 2017 / Published online: 3 February 2017
© The Author(s) 2017. This article is published with open access at Springerlink.com

Abstract The aim of this work was to determine the impact of surgically implanted telemetry transmitters (TTs) on the growth, survival, hematological and biochemical indexes, and wound healing in juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) (body weight 60–90 g). Two incision suturing methods were used—silk sutures (experiment I—group ST) or tissue adhesive (experiment II—group GT). After tagging, the fish were held in a recirculating system for 35 days. No statistically significant differences were noted in the growth or condition indexes analyzed among the fish tagged with TT compared with those from the control groups (untagged). Substantial individual variability was noted, however, in the parameters examined in both the control and tagged groups. Among the hematological indexes, statistically significant differences were only noted in experiment I. Lower values of mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin were noted in group ST. Among the biochemical parameters, creatinine was

statistically significantly threefold lower, magnesium and alkaline phosphatase (ALP) levels were lower, and ammonia levels were higher in group ST than in the control group. In experiment II, significant differences were only noted for ALP. Tissue adhesive was the superior and more effective method for closing the incision after TT implantation in juvenile pikeperch. This type of suturing facilitated faster healing, and it had less of an impact on juvenile pikeperch welfare.

Keywords Blood biochemistry · Dummy transmitter · Tissue adhesive · Pikeperch · Radio telemetry · Suture

Introduction

Drastic, systematic declines in pikeperch (*Sander lucioperca*) catches from open waters have been observed since the early 1950s (FAO 2012, 2016). Consequently, restocking programs for this species have been implemented in several countries (e.g., Finland, Poland, and Iran) (Bartley and Rana 1998; Steinfeldt et al. 2015). These programs, as well as other research projects, have begun analyzing the effectiveness of restocking this species along with investigating little known aspects of pikeperch biology, such as spawning migrations (Koed et al. 2000; Koed et al. 2002). Essential data are acquired from observations of tagged fish. Until recently, primarily traditional methods of tagging pikeperch have been used, for example, hot branding, marking with dyes like alcian blue, or external and internal tags (Saura 1996; Hansson et al. 1997). Studies

M. Rożyński (✉) · M. Hopko · Z. Zakęś
Department of Aquaculture, The Stanisław Sakowicz Inland
Fisheries Institute, Oczapowskiego 10, 10-719 Olsztyn, Poland
e-mail: m.rozynski@infish.com.pl

A. Kapusta
Department of Hydrobiology, The Stanisław Sakowicz Inland
Fisheries Institute, Oczapowskiego 10, 10-719 Olsztyn, Poland

K. Demska-Zakęś · A. Sikora
Department of Ichthyology, Faculty of Environmental Sciences,
University of Warmia and Mazury, Oczapowskiego 5,
10-959 Olsztyn, Poland

have also indicated that this species can be tagged successfully with coded wire tags (CWTs) or passive integrated transponders (PITs) (Zakęś and Hopko 2013; Zakęś et al. 2015).

One of the techniques that facilitate a better understanding and more effective monitoring of the various aspects of the lives of fish is telemetry (Baras and Lagardère 1995; Thorstad et al. 2013). Using telemetry transmitters (TTs) in ichthyological studies permits investigating the behavior and physiology of individuals in their natural environment; this method has become increasingly widespread recently, and it is developing continually (Thorstad et al. 2013). Frequently, telemetry study is the only reliable method that permits assessing the effectiveness of restocking, fish survival, spawning behavior, diel activity patterns, and habitat preferences (Cooke et al. 2013; Thorstad et al. 2013; Dudgeon et al. 2015).

Telemetry has also been used sporadically in studies of pikeperch with the aim of obtaining a better understanding of their biology and behavior, including spawning migratory routes. Reports of using telemetry transmitters in adult specimens (total body length (TL) >40 cm) of this species are found in the literature (Jepsen et al. 2000; Koed et al. 2002; Vehanen and Lahti 2003). Adult pikeperch are most frequently tagged with TTs that are inserted into the body cavity through a small incision, while the antenna is directed through an opening located just above it. The incision is closed with two or three silk sutures depending on the size of the incision and the size of the fish being tagged (Koed et al. 2000; Horký et al. 2006). Other methods of implantation incision closure, such as tissue adhesive or leaving the incision open, have been investigated in other fish species (Baras and Jeandrain 1998; Cooke et al. 2011).

The basic principle of tagging with this type of transmitter, as with other tagging methods, is that the presence of the transmitter in the fish body should not impact fish behavior, condition, or physiological or metabolic processes (Cooke et al. 2011). This is why as many factors as possible that could impact the welfare of the tagged fish during and after the procedure must be taken into consideration. For example, it is crucial to select the correct size tag for the size of the fish. Generally, the weight of the tag should not exceed 2% of that of the fish body (Winter 1996). It is also important to choose the appropriate implantation method (incision location and size, incision

closure method, and the technique for directing the antenna outside of the body) (Mulcahy 2003; Cooke et al. 2011). Additionally, the experience of the personnel performing the procedure and the method for inducing general anesthesia also have a direct impact on the welfare of the fish (Mulcahy 2003). Developing optimal methods for tagging fish with telemetry transmitters will permit treating the data obtained from a group of tagged individuals as representative of the entire population (Bridger and Booth 2003; Cooke et al. 2011). One significant disadvantage of this tagging method is the lack of wider ranging, documented data and information on the impact telemetry transmitter implantation has on the health and physiological processes of the fish, and particularly on juveniles. This data could be provided through studies of hematological and blood biochemical indexes of the fish. Since these parameters are strongly correlated with external factors that impact the fish, as well as with various pathological changes, these parameters are often determined to assess fish health. For example, blood biochemical indexes (glucose, total protein, magnesium, etc.) are important biological tools in the assessment of stress, nutritional status, and water-mineral balance in fish (Brinn et al. 2012). Red blood cell indexes can be useful in diagnosing anemia. It should also be pointed out that erythrocytes are a general index of various physiological adaptation strategies associated with environmental changes (Val et al. 1992). Additionally, hematological tests can be useful in diagnosing many diseases, including infectious ones (e.g., IPN, IHN, or VHS) (Zorriezhahra et al. 2010) and in toxicological studies (Pereira et al. 2013). A certain degree of caution must be exercised when interpreting hematological results, because in fish, the generally accepted range of values for individual indexes often do not take into consideration factors such as fish sex, origin (natural environment or aquaculture), water quality, or season of the year. Even simple manipulations, such as catching and transporting or the blood sampling procedure, can impact the results of hematological and biochemical determinations (Clauss et al. 2008).

The aim of this work was to study the impact of two intraperitoneal telemetry implantation procedures, which differed in how the implantation incision was closed (silk or tissue adhesive sutures), on fish growth and survival and the hematological and biochemical

parameters of juvenile pikeperch. The healing of the implantation incisions was also analyzed.

Materials and methods

Fish and initial rearing conditions

The study material was obtained through out-of-season spawning conducted at the Department of Sturgeon Breeding in Pieczarki (IFI Olsztyn, Poland) (Zakęś 2007). Larval and juvenile stages were reared in recirculating systems (RASs) in accordance with previously established procedures (Szkudlarek and Zakęś 2007). The fish with body weights of approximately 10 g were transported to the Department of Aquaculture (IFI Olsztyn, Poland) (transport time 2 h). Following the acclimatization phase, they were reared in experimental RAS outfitted with a rearing tank with a volume of 0.2 m³. The water temperature in the RAS was 20.7 ± 0.1 °C, the pH range was 7.70–8.05, and oxygenation at the water discharge from the rearing tank did not fall below 7.5 mg O₂ l⁻¹. The fish were reared until they had reached a body weight (BW) of about 60 g.

Two experiments were conducted. In experiment I, the fish standard length (SL) was 17.01 ± 0.52 cm (mean ± SD) and BW was 59.78 ± 4.55 g (mean ± SD). In experiment II, the fish used measured SL 19.67 ± 0.60 cm and BW 86.90 ± 6.43 g.

Fish-tagging procedure

The day before the fish were tagged with TT, all of the pikeperch were tagged in the cheek with PITs (Fish Eagle, Lechlade, Great Britain) (material—bioglass, length—12.0 ± 0.4 mm, diameter—2.12 ± 0.07 mm, weight—93 mg) (Zakęś and Hopko 2013). This permitted identifying individual specimens. Before tagging, the fish were bathed in an aqueous solution of etomidate (Propiscin, IFI Olsztyn, Poland) at a concentration of 1.5 ml l⁻¹ (Lambooj et al. 2009). After tagging with PITs and recovery time, the fish were returned to the RAS.

The fish were surgically implanted with radio transmitters (length 13 mm, diameter 5 mm, with a 21.5 cm external whip antenna; model F1515, ATS Inc., Isanti, MN, USA). The weight of the transmitters was 0.604–0.653 g (mean 0.63 g). The relative weight of the transmitters was <1.2% BW fish (experiment I) and <0.9%

BW pikeperch (experiment II). In experiment I, non-absorbable surgical silk (Jedwab Polski Sp. z o.o., Milanówek, Poland) was used to make two sutures to close the implantation incision, while in experiment II, Surgibond tissue adhesive was used (SMI AG, St. Vith, Belgium). Before implantation, the pikeperch were anesthetized in an aqueous solution of etomidate (Propiscin) at a concentration of 1.5 ml l⁻¹. After 3–4 min, the fish were in a state of general anesthesia that was apparent from the lack of balance and no reaction to external stimuli (Kristan et al. 2014). The transmitters were implanted to the body cavity through an incision measuring 10–15 mm that was made approximately 20 mm anterior to the pectoral fin, and the antenna was directed out of the body between the abdominal and anal fins (Wagner et al. 2011). After the procedure, the incision was disinfected with betadine (Lavipharm, Peania, Greece). When implanting TT and closing the incision with silk sutures, the procedure lasted 3–4 min and the recovery time ranged from 3 to 5 min. The length of the procedure of implanting and closing the incision with tissue adhesive was a mean of 1.5 min, and recovery time was 3–5 min. In experiment I, 18 fish (group ST) were tagged, and these fish were stocked into three rearing tanks (6 specimens per tank). The fish from the control group (18 specimens tagged only with PIT; group SC) were subjected to the same procedures as the experimental fish (with the exception of tagging and TT implantation) and were stocked into three tanks (6 specimens per tank). The same methodological principles were employed in experiment II (the group of fish tagged with TT were called group GT and the control group GC). After recovery in oxygenated containers with a volume of 0.08 m³, the fish were held in tanks with a volume of 0.2 m³. The specimens from a given tank/replicate were held in the same tank throughout the study period. The mean biomass of the stocks in the tanks in both experiments was 1.79 kg m⁻³ (experiment I) and 2.61 kg m⁻³ (experiment II). The fish were reared for 5 weeks in both experiments.

Conditions proper of rearing and feeding fish

Water temperature (±0.1 °C) and oxygen concentration (±0.01 mg O₂ l⁻¹) at the rearing tank inflows and outflows were measured daily. The amounts of total ammonia nitrogen (TAN = NH₄⁺-N + NH₃-N; ±0.01 mg TAN l⁻¹) and nitrites (NO₂-N; ±0.01 mg NO₂-N l⁻¹) and pH (±0.01) were measured

at the outflows of the rearing tanks weekly. The mean water temperature in both experiments was 22.0 ± 0.0 °C. In experiment I, the oxygen concentration at the tank outflows did not fall below $7.29 \text{ O}_2 \text{ l}^{-1}$ (82.8% saturation), while in experiment II, it was $7.21 \text{ O}_2 \text{ l}^{-1}$ (82.1% saturation). Concentrations of ammonia and nitrites at the outflows did not exceed $0.08 \text{ mg TAN l}^{-1}$ and $0.007 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$ (experiment I) or $0.04 \text{ mg TAN l}^{-1}$ and $0.001 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$ (experiment II). The water pH at the outflow in experiment I ranged from 7.96 to 8.00, while in experiment II, the range was 7.77–7.94.

In both experiments, the fish were fed the same feed—Aller Performa EX 3GR (AllerAqua, Christiansfeld, Denmark). The feed was delivered using an automatic band feeder (Fischtechnik GmbH, Nienburg, Germany) for 18 h d^{-1} (09:00–03:00). The daily feed ration was determined weekly at 1.5% of the fish biomass.

Research procedures

The fish were measured and weighed individually just before implanting the TT (day 0— d_0) ($SL \pm 0.1 \text{ cm}$; $BW \pm 0.01 \text{ g}$). Subsequent individual measurements were taken every 7 days (d_7 , d_{14} , d_{21} , d_{28} , and d_{35}). During measurements, each fish was identified with a PIT tag reader (Fish Eagle, Lechlade, Great Britain). During the individual measurements, the state of the silk sutures or tissue adhesive was assessed (Table 1; Deters et al. 2010), and the state of the abdominal incision site was examined macroscopically (Table 2; Miller et al. 2014). Throughout the experiment, the occurrence of redness, edema, inflammation, infection, and tissue necrosis at the implantation site was also monitored (Table 3).

Feed consumption, expelled PIT or TT tags in the tanks, and fish behavior and mortality were monitored daily. The data collected served to calculate the following:

Table 1 Silk or adhesive suture assessment criteria

Rank	Assessment criteria
0	Lack of silk/adhesive sutures
1	Silk/adhesive sutures partially cover incision
2	Silk/adhesive sutures fully cover incision

Source: Deters et al. (2010)

Table 2 Macroscopic assessment criteria of the incision site

Rank	Assessment criteria
0	Incision fully closed and healed/no trace of incision
1	Incision fully closed but not healed
2	Incision healing, sides of incision only partially connected with tissue
3	Incision healing, but sides of incision not closed/not connected with tissue
4	Less than 50% of wound open
5	More than 50% of wound open
6	Wound fully open

Source: Miller et al. (2014)

daily growth rate— $\text{DGR} (\text{g d}^{-1}) = (BW_2 - BW_1) \times t^{-1}$, specific growth rate— $\text{SGR} (\% \text{ d}^{-1}) = 100 \times (\ln BW_2 - \ln BW_1) \times t^{-1}$, Fulton's condition coefficient— $F = 100 \times BW \times SL^{-3}$, and feed conversion ratio— $\text{FCR} = \text{TFS} \times (\text{FB} - \text{IB})^{-1}$, where BW_1 is the initial fish body weight (g), BW_2 is the final fish body weight (g), t is the rearing time (days), SL is the fish body length (cm), FB is the final stock biomass (g), IB is the initial stock biomass (g), and TFS is the total feed supply (g).

On the concluding days of experiments I and II (d_{35}), approximately 1 ml of blood was drawn directly from the caudal vein of each specimen with a heparinized syringe (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Germany) after the fish had been anesthetized (Propiscin, 1.5 ml l^{-1}). The blood samples were used to determine the following hematological indexes: white blood cell count (WBC), red blood cell count (RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), and platelets (PLTs). The samples were also used to determine the following erythrocyte indexes: mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC). Portions of the blood samples were centrifuged at a speed of $1500 \times g$ for 3 min (Fresco 17, Thermo Scientific, Waltham, USA). The material obtained was used to determine the following biochemical indexes: creatinine

Table 3 Post-implantation incision assessment criteria

Rank	Assessment criteria
0	Clean incision
1	Some redness
2	Inflammation
3	Infection, necrosis

Table 4 Rearing indexes of pikeperch tagged with telemetry transmitters (experiment I—control group (SC) and silk suture group (ST) and experiment II—control group (GC) and adhesive suture group (GT)) on subsequent days of rearing (d_0 —initial day of rearing; d_7 , d_{14} , d_{21} , d_{28} , d_{35} —days 7, 14, 21, 28, and 35 of rearing, respectively) (mean \pm SD, $n = 18$)

Index day of rearing	Experiment I		Experiment II	
	Group SC	Group ST	Group GC	Group GT
SL (cm)				
d_0	16.89 (± 0.52)	17.13 (± 0.50)	19.57 (± 0.73)	19.77 (± 0.44)
d_{35}	19.94 (± 1.02)	19.57 (± 1.37)	21.54 (± 1.50)	21.29 (± 1.59)
BW (g)				
d_0	59.37 (± 3.79)	60.19 (± 5.29)	86.81 (± 6.63)	86.99 (± 6.41)
d_7	66.97 (± 5.52)	64.61 (± 8.07)	93.91 (± 10.56)	91.72 (± 11.28)
d_{14}	74.12 (± 8.48)	69.57 (± 12.15)	100.21 (± 15.01)	96.61 (± 16.83)
d_{21}	82.69 (± 9.13)	75.40 (± 15.83)	107.04 (± 20.06)	101.04 (± 22.70)
d_{28}	91.76 (± 11.58)	83.28 (± 20.42)	111.89 (± 25.17)	105.46 (± 27.76)
d_{35}	100.19 (± 15.48)	88.30 (± 24.50)	118.44 (± 30.27)	110.95 (± 34.00)
DGR (g d ⁻¹)				
d_0 – d_7	1.09 (± 0.34)	0.63 (± 0.67)	1.01 (± 0.87)	0.67 (± 0.98)
d_7 – d_{14}	1.02 (± 0.58)	0.71 (± 0.70)	0.90 (± 0.80)	0.70 (± 0.94)
d_{14} – d_{21}	1.23 (± 0.44)	0.83 (± 0.67)	0.98 (± 0.84)	0.63 (± 0.88)
d_{21} – d_{28}	1.30 (± 0.43)	1.13 (± 1.35)	0.69 (± 0.95)	0.63 (± 0.82)
d_{28} – d_{35}	1.20 (± 0.64)	0.72 (± 0.65)	0.93 (± 1.00)	0.78 (± 0.98)
d_0 – d_{35}	1.17 (± 0.37)	0.80 (± 0.62)	0.90 (± 0.79)	0.68 (± 0.89)
SGR (% d ⁻¹)				
d_0 – d_7	1.70 (± 0.48)	0.96 (± 1.01)	1.07 (± 0.94)	0.69 (± 1.04)
d_7 – d_{14}	1.40 (± 0.84)	0.95 (± 0.97)	0.85 (± 0.81)	0.64 (± 0.92)
d_{14} – d_{21}	1.57 (± 0.66)	1.05 (± 0.86)	0.84 (± 0.74)	0.5 (± 0.78)
d_{21} – d_{28}	1.46 (± 0.40)	1.28 (± 1.79)	0.51 (± 0.81)	0.47 (± 0.73)
d_{28} – d_{35}	1.19 (± 0.63)	0.70 (± 0.69)	0.68 (± 0.85)	0.54 (± 0.78)
d_0 – d_{35}	1.46 (± 0.38)	0.99 (± 0.75)	0.79 (± 0.73)	0.57 (± 0.81)
F (–)				
d_0	1.23 (± 0.09)	1.20 (± 0.09)	1.16 (± 0.09)	1.12 (± 0.06)
d_7	1.25 (± 0.08)	1.18 (± 0.09)	1.15 (± 0.10)	1.13 (± 0.09)
d_{14}	1.25 (± 0.09)	1.18 (± 0.10)	1.18 (± 0.11)	1.13 (± 0.10)
d_{21}	1.26 (± 0.08)	1.18 (± 0.12)	1.17 (± 0.11)	1.13 (± 0.11)
d_{28}	1.26 (± 0.09)	1.21 (± 0.22)	1.15 (± 0.11)	1.12 (± 0.13)
d_{35}	1.25 (± 0.09)	1.15 (± 0.13)	1.16 (± 0.12)	1.11 (± 0.13)
FCR (–)				
d_0 – d_7	0.70 (± 0.03)	1.25 (± 0.18)	1.16 (± 0.33)	1.72 (± 0.45)
d_7 – d_{14}	0.93 (± 0.16)	1.30 (± 0.12)	1.55 (± 0.5)	2.04 (± 0.75)
d_{14} – d_{21}	0.86 (± 0.13)	1.21 (± 0.15)	1.55 (± 0.51)	2.62 (± 1.47)
d_{21} – d_{28}	0.89 (± 0.04)	1.13 (± 0.51)	2.89 (± 1.93)	2.33 (± 0.46)
d_{28} – d_{35}	1.08 (± 0.11)	1.76 (± 0.53)	1.91 (± 0.92)	1.95 (± 0.44)
d_0 – d_{35}	0.88 (± 0.04)	1.26 (± 0.25)	1.62 (± 0.49)	2.06 (± 0.58)
Mortality (%)				
d_0 – d_{35}	0	0	0	0

Details are provided in the “Materials and methods” section. No statistically significant differences between groups were noted within the same experiments ($P > 0.05$)

(CREA), total protein (TP), total bilirubin (BIL-T), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), calcium (Ca), albumin (ALB), globulin (GLB), glucose (GLU), magnesium (Mg), and ammonia (NH₃). Hematological measurements were done with a BC-2800 VET semi-automatic hematology analyzer (Mindray, Shenzhen, China), while biochemical measurements were done with a BS-120 automatic chemistry analyzer (Mindray, Shenzhen, China).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed with Statistica 12 (StatSoft Inc., USA). The homogeneity of variance was tested using Levene's test. The experiment results concerning growth data, silk and adhesive suture retention, and incision assessments were analyzed with repeated measure variance analysis (ANOVA; $n = 18$). Assumptions of sphericity were verified with Mauchly's test of sphericity ($P \leq 0.05$). This analysis was followed by post hoc pairwise multiple comparisons with Tukey's HSD test. If the assumptions of sphericity were violated, then a multivariate test was applied. If statistically significant differences were confirmed between the variables compared, but there was no significant interaction in the system of repeated measurements, planned comparison analysis was used. Then, both factors (incision closed with adhesive or surgical silk sutures) in subsequent weeks of the experiments were compared. However, statistical significance in hematological and biochemical indicators was tested with the Mann-Whitney test. Differences were noted as significant at $P \leq 0.05$.

Results

Rearing indicators

Tagging did not influence fish behavior, activity, or feeding. No statistically significant differences were noted in the growth, condition, and FCR indexes analyzed in the tagged or control group fish from either of the experiments ($P > 0.05$; Table 4). No pikeperch mortality was noted in either of the experiments.

Tagging effectiveness indicators

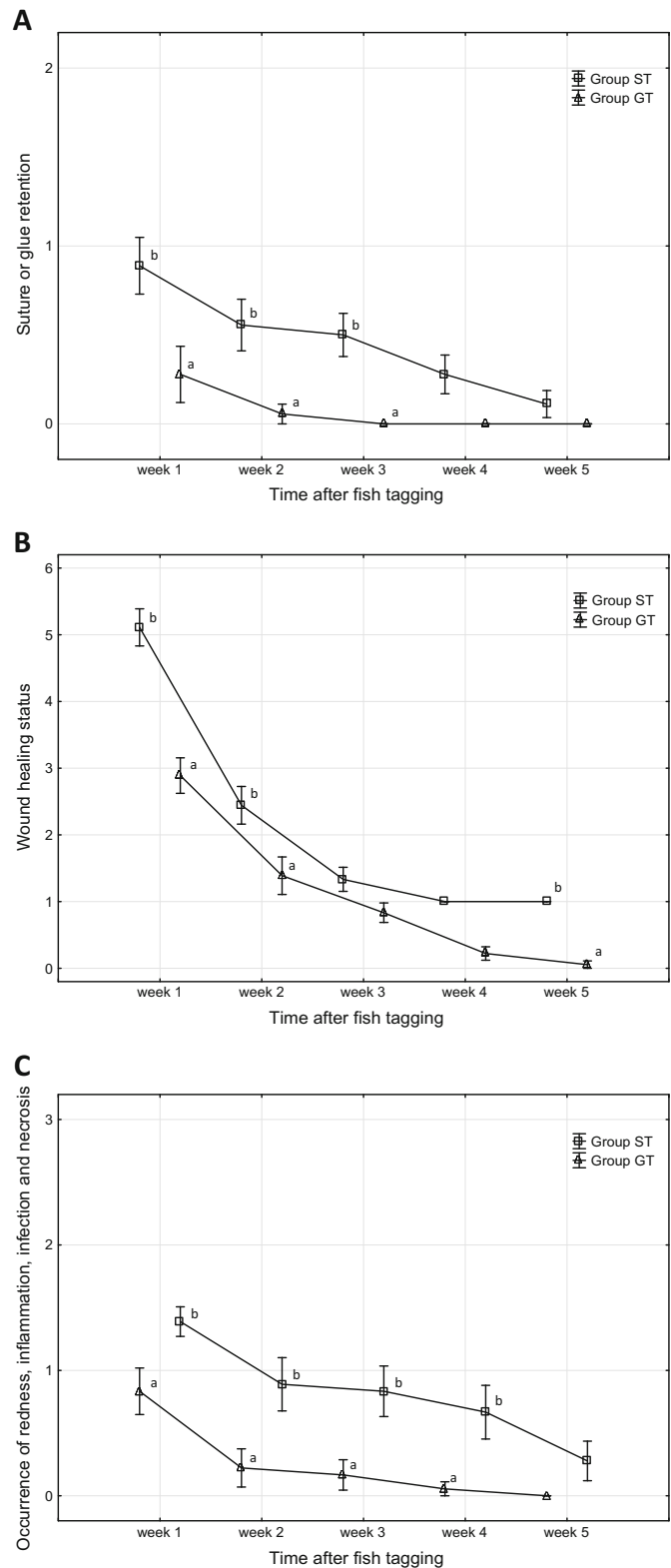
The ranking values of silk and tissue adhesive suture-holding capacity in the tagged fish differed significantly

statistically (Table 1 and Fig. 1a). The tissue adhesive in group GT was shed, in most cases, in the first week of the experiment. While in group ST, the silk sutures were shed throughout the experiment. The incision closure method applied was significant for the degree of holding capacity of the tissue adhesive or silk sutures that closed the incision ($P < 0.05$). At week 3 post-surgery, the tissue adhesive-holding capacity (rank) was still significantly lower than that of the silk sutures (Fig. 1a). In the group of fish with surgical silk sutures (ST), only one fish lost its TT tag during the experiment (in the second week; 94% retention), while in the group of fish in which tissue adhesive had been used (GT), TT tag retention was 100% for the duration of the experiment.

Implantation wounds healed faster in the fish from group GT, in which tissue adhesive had been used to close the incision (Table 2 and Fig. 1b). After the first week of rearing following tagging, the incisions of most of the fish from group GT were at level 3 in the range of incision index scores ($P < 0.05$; Fig. 1b). However, at the same time in the group of fish with silk sutures (ST), the implantation wound were at a mean level of 5 in the range of incision index scores and more than 50% of them were open. After the second week of rearing, the difference in healing rates decreased, but it remained statistically significant. The healing of the wounds of pikeperch from group GT oscillated between levels 1 and 2 in the range of incision index scores, while in group ST, it was between 2 and 3 ($P < 0.05$). After the third and fourth weeks, the differences between the two groups of tagged fish were no longer statistically significant. After the fifth week, the fish from group GT achieved level 0 in the range of incision index scores, while fish from group ST remained at level 1 ($P < 0.05$; Fig. 1b).

The method of incision closure had a statistically significant impact on the healing rate and the state of the wound ($P < 0.05$). In the groups of fish in which the implantation incision was closed with tissue adhesive, there were fewer specimens with redness at the incision site (GT—7, ST—11) or that exhibited evident symptoms of inflammation (GT—4, ST—7) (Fig. 1c). Additionally, the incisions of seven fish from this group (GT) were clean and were healing through primary adhesion (group ST—0 fish). No signs of inflammation were noted in specimens from group GT as early as week 4 of the experiment, while by week 5, there was a lack of redness. However, redness (1 fish) and inflammation (2 fish) were noted until the conclusion of the experiment

Fig. 1 Wound healing and the state of silk sutures or tissue adhesive in two groups of pikeperch following the implantation of telemetry transmitters (group ST—fish in which wounds were closed with silk sutures; group GT—pikeperch in which wounds were closed with tissue adhesive). State of silk sutures or tissue adhesive (**a**; see Table 1). State of wound healing (**b**; see Table 2). Occurrence of redness, inflammation, and infection (**c**; see Table 3). Data with *different letter indexes* from the same week differ significantly statistically ($P \leq 0.05$) (mean values \pm SE)



in some specimens from group ST (Fig. 1c). None of the fish examined, regardless of the method used to close the incision, exhibited symptoms of infection or tissue necrosis. The methods used to close the incision permitted achieving uniform results (incision state) at the conclusion of the experiments. However, the closure of the incision following the implantation of transmitters using tissue adhesive was more advantageous. The analysis of the planned comparisons indicated that there were statistically significant differences in the assessments of incision inflammation until week 4 of the experiments ($P < 0.05$), and only in week 5 did these differences become statistically insignificant ($P > 0.05$).

Hematological and biochemical indicators

Among the hematological indicators analyzed, statistically significant differences were only noted in experiment I (Table 5). Higher values of MCV and MCH were noted in the control group ($P < 0.05$), while intergroup differences in the values of the remaining indicators, i.e., WBC, RBC, HGB, HCT, MCHC, and PLT, were statistically insignificant ($P > 0.05$; Table 5).

The results of the biochemical determinations in experiment I indicated that the pikeperch from the control group had a statistically significant, threefold higher level of CREA, a higher level of magnesium (Mg), and a lower level of ammonia (NH_3) ($P < 0.05$; Table 6). The remaining parameters in both experiments did not differ significantly statistically ($P > 0.05$) with the exception of ALP, the activity of which was lower in the TT tagged fish in both experiments ($P < 0.05$; Table 6).

Discussion

Tagging pikeperch with TT was not confirmed to impact growth in either of the experiments. Similar effects from telemetry transmitter implantation were observed in green sturgeon (*Acipenser medirostris*) (TL 45.4 ± 0.6 cm), in which, after 140 days of the experiment, telemetry transmitter tagging was not found to have had any impact on growth indexes (Miller et al. 2014). The telemetry transmitter implantation in gilthead bream (*Sparus aurata*) (BW 289 ± 53 g) had no significant impact on the growth or behavioral reactions (feed ingestion or physical activity) of the tagged fish. Although immediately following tagging slight

differences in mobility were noted, after a few days, the physical activity of the fish returned to that observed prior to the implantation procedure (Montoya et al. 2012). Different observations are reported for brown trout (*Salmo trutta*), among other species. Implanting wild brown trout (TL 19.4 ± 5.2 cm) with telemetry transmitters had a negative impact on their growth in natural conditions. The slowed growth rates in this species were explained by the higher-energy requirements for incision healing and by the altered physical activity of the fish (Jepsen et al. 2008). Slower growth 144 days following the implantation procedure was also reported in bluefish (*Pomatomus saltatrix*), a marine fish of the order Perciformes (Thorstad et al. 2009). Although information can be found in the literature regarding the negative impact of telemetry transmitter tagging on the growth parameters of some fish species, most scientists investigating this issue do not report decreases in the values of these indexes (Adams et al. 1998; Martinelli et al. 1998; Bégout-Anras et al. 2003; Cooke et al. 2003; the current study). Presumably, the root of these differences stem mainly from species differences, size differences, the origins of the tagged fish, and various implantation techniques. The conditions under which the studies are conducted, i.e., in a laboratory/hatchery or in the wild, could also be of significance.

Among the hematological indexes determined, statistically significant differences were only noted in the experiment in which the pikeperch implantation incision was closed with silk sutures. The fish from group ST had lower MCV and MCH values in the systemic blood ($P < 0.05$). The decreased values of these parameters can indicate lowered iron levels and water-electrolyte disruptions caused by blood loss and chronic inflammation of the implantation incision in group ST. Neves et al. (2016) report similar views. Most of the biochemical parameters determined in the blood of juvenile pikeperch following the implantation of telemetry transmitters did not differ significantly from the values of these parameters in the fish from the control groups. Very similar results were reported for gilt-head bream, which, after being tagged with TT, just like with pikeperch (experiments I and II), most parameters were comparable to those of the control group, for example, blood glucose levels (Montoya et al. 2012). In their study of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*), Luo et al. (2014) observed significant increases in the levels of blood glucose and cortisol 3 h following

Table 5 Hematological indexes of two pikeperch groups in which different implantation incision suturing was applied (experiment I—control group (SC) and silk suture group (ST) and experimentII—control group (GC) and adhesive suture group (GT)) (mean \pm SD, $n = 18$)

		Experiment I		Experiment II	
		Group SC	Group ST	Group GC	Group GT
WBC	$10^3 \mu\text{L}^{-1}$	69.72 (± 18.11)	71.14 (± 12.74)	71.48 (± 12.37)	71.73 (± 16.93)
RBC	$10^6 \mu\text{L}^{-1}$	1.64 (± 0.21)	1.63 (± 0.21)	1.65 (± 0.16)	1.55 (± 0.23)
HGB	g L^{-1}	36.61 (± 4.75)	34.69 (± 4.21)	38.67 (± 4.49)	37.06 (± 5.62)
HCT	%	27.14 (± 3.07)	25.52 (± 3.57)	26.69 (± 2.86)	25.02 (± 3.55)
MCV	fL	122.93 (± 5.84) b	116.16 (± 8.14) a	119.94 (± 8.43)	120.08 (± 8.52)
MCH	pg	22.26 (± 1.39) b	21.26 (± 1.14) a	23.34 (± 1.63)	23.88 (± 1.87)
MCHC	g L^{-1}	181.50 (± 8.89)	183.50 (± 8.45)	195.22 (± 8.03)	199.35 (± 10.65)
PLT	$10^3 \mu\text{L}^{-1}$	18.89 (± 4.87)	20.25 (± 15.49)	20.33 (± 5.88)	19.06 (± 7.75)

Details are provided in the “Materials and methods” section. Groups with different letter indexes from the same experiment differ significantly statistically ($P \leq 0.05$)

implantation in both the group of fish tagged with TT and in that that was subjected to the surgical procedure without implantation (sham sample). Increases in these parameters are evidence of the stress induced in fish by implantation. However, the effect was short term, because after 24 h, both of these parameters returned to initial values. The results reported by Luo et al. (2014) indicate that the main stress factor for the fish is the abdominal incision and not TT implantation. Similarly, largemouth bass (*Micropterus salmoides*), which spent about a year (362 days) in open waters after being

tagged with TT, did not exhibit significant differences in glucose levels or in total protein and magnesium levels, which reflect nutritional status (Caputo et al. 2009). In turn, pikeperch levels of magnesium were comparable with those of the control group only in experiment II. It is also noteworthy that in the pikeperch from experiments I and II, the values of the two other nutritional status indexes (total protein and calcium) also did not differ significantly from those in the fish from the control group. Thus, it can be concluded that the TT implantation procedure did not lead to changes in the

Table 6 Biochemical indexes of two pikeperch groups in which different implantation incision suturing was applied (experiment I—control group (SC) and silk suture group (ST) and experiment II—control group (GC) and adhesive suture group (GT) (mean \pm SD, $n = 18$)

		Experiment I		Experiment II	
		Group SC	Group ST	Group GC	Group GT
CREA	mg dl^{-1}	0.27 (± 0.19) b	0.09 (± 0.07) a	0.24 (± 0.20)	0.22 (± 0.21)
TP	g dl^{-1}	4.11 (± 0.36)	4.01 (± 0.35)	3.73 (± 0.36)	3.63 (± 0.43)
BIL-T	mg dl^{-1}	0.07 (± 0.08)	0.06 (± 0.03)	0.13 (± 0.13)	0.12 (± 0.16)
ALT	U L^{-1}	59.83 (± 54.85)	44.29 (± 42.27)	43.56 (± 45.09)	64.88 (± 66.89)
ALP	U L^{-1}	74.06 (± 17.71) b	54.94 (± 21.59) a	70.44 (± 17.88) b	54.24 (± 14.73) a
Ca	mg dl^{-1}	10.58 (± 1.83)	10.44 (± 0.93)	10.83 (± 0.50)	10.63 (± 0.44)
ALB	g dl^{-1}	1.46 (± 0.23)	1.48 (± 0.13)	1.31 (± 0.23)	1.26 (± 0.23)
GLOB	g dl^{-1}	2.65 (± 0.20)	2.52 (± 0.28)	2.42 (± 0.20)	2.36 (± 0.28)
GLU	mg dl^{-1}	65.00 (± 11.66)	55.35 (± 14.21)	64.83 (± 26.58)	66.06 (± 28.7)
Mg	mg dl^{-1}	2.57 (± 0.17) b	2.43 (± 0.14) a	2.51 (± 0.11)	2.48 (± 0.08)
NH_3	$\mu\text{g dl}^{-1}$	670.32 (± 176.25) a	899.55 (± 398.36) b	477.91 (± 171.92)	464.81 (± 133.57)

Details are provided in the “Materials and methods” section. Groups with different letter indexes from the same experiment differ significantly statistically ($P \leq 0.05$)

nutritional status of the pikeperch. In group ST (experiment I), significant decreases in the levels of creatinine in the serum and increased ammonia concentrations (134% of the values determined for group SK) were noted. The values of these indexes, which are markers of kidney function and metabolism, among other factors, are evidence of intense protein catabolism associated with increased energy demands when there is inflammation and incision healing (Prakash et al. 2014). The differences referred to above observed in experiment I (silk sutures) were not noted in the pikeperch from experiment II, in which the implantation incision closed with tissue adhesive healed more quickly. Alkaline phosphatase activity is a helpful marker of the health status of bodies. Lowered levels of the activity of this enzyme in both groups (ST and GT) indicate disruption in liver function associated with the synthesis of factors responsible for hemostasis, increased protein catabolism, and incision healing. Decreases in ALP activity can stem directly from a decelerated glycogen synthesis rate, malnutrition, or the wasting/exhaustion of the body (Shaffi 1979).

Wound healing following the surgical implantation of transmitters has a significant impact on fish welfare and the success of telemetry studies (Rub et al. 2014). The telemetry transmitter implantation wounds healed faster in the group of juvenile pikeperch, in which the incision was closed with tissue adhesive. The layer of adhesive peeled off after the first week as soon as the opposing edges of the incision had joined, and the state of healing was satisfactory 2 weeks after tag implantation. Different results were reported in eel (*Anguilla anguilla*) (TL 56.2–78.0 cm) following TT implantation in the body cavity (tag weight <0.6% BW). The incisions healed more quickly in the group of fish in which closure was done with silk sutures (40 days—time between implantation and complete incision healing) and not with tissue adhesive (52 days). However, the silk sutures did cause inflammation, and they contributed to higher mortality rates in the tagged eel (silk sutures—60%; tissue adhesive—10%, incision not closed—20%). Significantly, the implantation incisions that were not closed healed most quickly (28 days) (Baras and Jeandrain 1998). In our study, after the first week of the experiment, 61% of the pikeperch in which the implantation incision was closed with sutures exhibited redness, while in 39%, there was distinct inflammation. In group GT, these symptoms were noted in 39 and 22% of specimens, respectively. After the conclusion of the

experiment (5 weeks), no specimens from group GT exhibited these symptoms, while in group ST, 16.7% of the fish still did. In this group, redness/inflammation was noted mainly in the vicinity of the silk sutures that closed the incision. Incision healing in pikeperch specimens in which the sutures fell out earlier (1–2 weeks following tagging) was faster, and inflammation did not occur. In largemouth bass, inflammation, infection, and even tissue necrosis in the vicinity of the sutures following telemetry transmitter implantation were confirmed in 7 of 17 tagged fish (41%), despite the application of absorbable monofilament silk and the fact that 362 days had passed since the implantation procedure had been performed (Caputo et al. 2009).

Brown trout that was tagged with TT was confirmed to have symptoms of inflammation and tissue necrosis at the antenna exit site on the body (Jepsen et al. 2008). Bauer et al. (2005) observed that this site could even become infected. However, beside some slight ecchymosis of the skin near the antenna, no other symptoms of infection or inflammation were noted in pikeperch. These relatively slight changes resulted from other specimens taking hold of the antennae (Z. Zakęs, personal observation). It is possible that in the wild, this phenomenon would not occur or that it might occur less frequently than in the limited space of rearing tanks.

The expulsion of surgically implanted TT tagging is a phenomenon that is described in the literature (Burrell et al. 2000; Jepsen et al. 2002). It occurs most frequently within the first few weeks after tagging and depends on many factors (species, fish health status, tag weight/size, and environmental conditions) (Jepsen et al. 2002). Fish shed tags in the following three ways: through the implantation incision, through the skin, or through the intestines (which is a rare occurrence) (Jepsen et al. 2002). During the experiment, among the 18 fish tagged, only 1 specimen shed its tag. The fish shed its tag in the second week of rearing through the implantation incision that had been closed with silk sutures (group ST).

Summary

The surgical method for tagging pikeperch with telemetry transmitters did not have a negative impact on either behavior or physiological processes. Tissue adhesive was better for suturing implantation incisions as fewer statistically significant differences were noted in the

hematological and biochemical parameters of fish in which this method was applied. Significantly, this method promoted faster healing of the implantation incision. Additionally, closing the incision with adhesive, in contrast to silk sutures, did not result in inflammation or infection. In consideration of the preceding arguments, using tissue adhesive to close implantation incisions could be recommended as a method for tagging juvenile pikeperch with TT. It is crucial, however, to select the appropriate size and weight of transmitter and to use the appropriate implantation techniques (by trained personnel) and surgical equipment (Mulcahy 2003).

Acknowledgments The study was financed as part of research project number IRS-046-35/-1.1/1/2016 “Impact of telemetry transmitter implantation on the welfare of pikeperch (*Sander lucioperca*) and perch (*Perca fluviatilis*)” and statutory topic S-028 of the Inland Fisheries Institute in Olsztyn. The research presented in the submitted manuscript has been conducted in accordance with the ethical standards (Agreement No. 24/2011, 30.03.2011). The authors would like to thank two anonymous referees, whose advice improved the manuscript considerably.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

References

- Adams NS, Rondorf DW, Evans SD, Kelly JE, Perry RW (1998) Effects of surgically and gastrically implanted radio transmitters on swimming performance and predator avoidance of juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Can J Fish Aquat Sci* 55:781–787. doi:10.1139/f97-285
- Baras E, Lagardère JP (1995) Fish telemetry in aquaculture: review and perspectives. *Aquacult Int* 3:77–102. doi:10.1007/BF00117876
- Baras E, Jeandrain D (1998) Evaluation of surgery procedures for tagging eel *Anguilla anguilla* with telemetry transmitters. *Hydrobiologia* 371(372):107–111
- Bartley DM, Rana K (1998) Stocking inland waters of the Islamic Republic of Iran. *The FAO Aquaculture Newsletter* 18:16–19
- Bauer C, Unfer G, Loupal G (2005) Potential problems with external trailing antennas: antenna migration and ingrowth of epithelial tissue—a case study from a recaptured nase, *Chondrostoma nasus* (L.). *J Fish Biol* 67:885–889. doi:10.1111/j.0022-1112.2005.00781.x
- Bégout-Anras ML, Covés D, Dutto G, Laffargue P, Lagardère F (2003) Tagging juvenile seabass and sole with telemetry transmitters: medium term effects on growth. *ICES J Mar Sci* 60:1328–1334. doi:10.1016/S1054-3139(03)00135-8
- Bridger CJ, Booth RK (2003) The effects of biotelemetry transmitter presence and attachment procedures on fish physiology and behavior. *Rev Fish Sci* 11:13–34
- Brinn RP, Marcon JL, Gomes DM, Abreu LC, Baldisserotto B (2012) Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. hystrix*) during transportation in the Amazon region of the Rio Negro. *Comp Biochem Physiol A* 162:139–145. doi:10.1016/j.cbpa.2011.07.004
- Burrell KH, Isely JJ, Bunnell DB Jr, Lear DH, Dolloff CA (2000) Seasonal movement of Brown trout in a southern Appalachian River. *Trans Am Fish Soc* 129:1373–1379. doi:10.1577/1548-8659(2000)129<1373:SMOBTI>2.0.CO;2
- Caputo M, O'Connor CM, Hasler CT, Hanson KC, Cooke SJ (2009) Long-term effects of surgically implanted telemetry tags on the nutritional physiology and condition of wild freshwater fish. *Dis Aquat Org* 84:35–41. doi:10.3354/dao02025
- Clauss TM, Dove A, Arnold J (2008) Hematologic disorders of fish. *Vet Clin Exot Anim* 11:445–462. doi:10.1016/j.cvex.2008.03.007
- Cooke SJ, Graeb BDS, Suski CD, Ostrand KG (2003) Effects of suture material on incision healing, growth and survival of juvenile largemouth bass implanted with miniature radio transmitters: case study of a novice and experienced fish surgeon. *J Fish Biol* 62:1366–1380. doi:10.1046/j.1095-8649.2003.00119.x
- Cooke SJ, Midwood JD, Thiem JD, Klimley P, Lucas MC, Thorstad EB, Eiler J, Holbrook C, Ebner BC (2013) Tracking animals in freshwater with electronic tags: past, present and future. *Anim Biotelem* 1:5. doi:10.1186/2050-3385-1-5
- Cooke SJ, Woodley CM, Eppard MB, Brown RS, Nielsen JL (2011) Advancing the surgical implantation of electronic tags in fish: a gap analysis and research agenda based on a review of trends in intracoelomic tagging effects studies. *Rev Fish Biol Fish* 21:127–151. doi:10.1007/s1160-010-9193-3
- Deters KA, Brown RS, Carter KM, Boyd JW, Eppard MB, Seaburg AG (2010) Performance assessment of suture type, water temperature, and surgeon skill in juvenile Chinook salmon surgically implanted with acoustic transmitters. *Trans Am Fish Soc* 139:888–899. doi:10.1577/T09-043.1
- Dudgeon CL, Pollock KH, Braccini JM, Semmens JM, Barnett A (2015) Integrating acoustic telemetry into mark–recapture models to improve the precision of apparent survival and abundance estimates. 178:761–772. doi: 10.1007/s00442-015-3280-z
- FAO (2012) Cultured Aquatic Species Information Programme—*Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758). http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sander_lucioperca/en. Accessed 25 October 2016
- FAO (2016) Global capture production 1950–2014. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-capture-production/query/en>. Accessed 22 October 2016
- Hansson S, Arrhenius F, Nellbring S (1997) Benefits from fish stocking—experiences from stocking young-of-the-year pikeperch, *Stizostedion lucioperca* L. to a bay in the Baltic Sea. *Fish Res* 32:123–132. doi:10.1016/S0165-7836(97)00050-7
- Horký P, Slavík O, Bartoš L, Kolářová J, Randák T (2006) The effect of the moon phase and seasonality on the behavior of pikeperch in the Elbe River. *Folia Zool* 55:411–417

- Jepsen N, Koed A, Thorstad EB, Baras E (2002) Surgical implantation of telemetry transmitters in fish: how much have we learned? *Hydrobiologia* 483:239–248. doi:10.1023/A:1021356302311
- Jepsen N, Mikkelsen JS, Koed A (2008) Effects of tag and suture type on survival and growth of brown trout with surgically implanted telemetry tags in the wild. *J Fish Biol* 72:594–602. doi:10.1111/j.1095-8649.2007.01724.x
- Jepsen N, Pedersen S, Thorstad E (2000) Behavioural interactions between prey (trout smolts) and predators (pike and pikeperch) in an impounded river. *Regulated Rivers: Res Mgmt* 16:189–198. doi:10.1002/(SICI)1099-1646(200003/04)16:2<189::AID-RRR570>3.3.CO;2-E
- Koed A, Mejlhede P, Balleby K, Aarestrup K (2000) Annual movement and migration of adult pikeperch in a lowland river. *J Fish Biol* 57:1266–1279. doi:10.1006/jfbi.2000.1389
- Koed A, Balleby K, Mejlhede P (2002) Migratory behaviour of adult pikeperch (*Stizostedion lucioperca*) in a lowland river. *Hydrobiologia* 483:175–184. doi:10.1023/A:1021331629628
- Kristan J, Stara A, Polgesek M, Drasovean A, Kolarova J, Priborsky J, Blecha M, Svacina P, Policar T, Velisek J (2014) Efficacy of different anaesthetics for pikeperch (*Sander lucioperca* L.) in relation to water temperature. *Neuroendocrinol Lett* 35(2):81–85
- Lambooy B, Pilarczyk M, Białowas H, Reimert H, André G, van de Vis H (2009) Anaesthetic properties of Propiscin (Etomidat) and 2-phenoxyethanol in the common carp (*Cyprinus carpio* L.), neural and behavioural measures. *Aquac Res* 40:1328–1333. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02233.x
- Luo H, Duan X, Liu S, Chen D (2014) Effects of surgically implanted dummy ultrasonic transmitters on physiological response of bighead carp *Hypophthalmichthys nobilis*. *Fish Physiol Biochem* 40:1521–1532. doi:10.1007/s10695-014-9945-4
- Martinelli TL, Hansel HC, Shively RS (1998) Growth and physiological responses to surgical and gastric radio-transmitter implantation techniques in subyearling Chinook salmon. *Hydrobiologia* 371/372:79–87. doi:10.1023/A:1017019006039
- Miller EA, Froehlich HE, Cocherell DE, Thomas MJ, Cech JJ Jr, Klimley AP, Fänge NA (2014) Effects of acoustic tagging on juvenile green sturgeon incision healing, swimming performance, and growth. *Environ Biol Fish* 97:647–658. doi:10.1007/s10641-013-0167-x
- Montoya A, López-Olmeda JF, Lopez-Capel A, Sánchez-Vázquez FJ, Pérez-Ruzafa A (2012) Impact of a telemetry-transmitter implant on daily behavioral rhythms and physiological stress indicators in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Mar Environ Res* 79:48–54. doi:10.1016/j.marenvres.2012.05.002
- Mulcahy DM (2003) Surgical implantation of transmitters into fish. *ILAR J* 44:295–304. doi:10.1093/ilar.44.4.295
- Neves JV, Caldas C, Ramos MF, Rodrigues PNS (2016) Hepcidin-dependent regulation of erythropoiesis during anemia in a teleost fish, *Dicentrarchus labrax*. *PLoS One* 11(4):e0153940. doi:10.1371/journal.pone.0153940
- Pereira L, Fernandes MN, Martinez CBR (2013) Hematological and biochemical alterations in the fish *Prochilodus lineatus* caused by the herbicide clomazone. *Environ Toxicol Pharmacol* 36:1–8. doi:10.1016/j.etap.2013.02.019
- Prakash MM, Gaherwal S, Soni R, Wast N (2014) Cypermethrin induced biochemical changes in kidney of *Clarias batrachus*. *World Appl Sci J* 32:18–21. doi:10.5829/idosi.wasj.2014.32.01.83225
- Rub AMW, Jepsen N, Liedtke TL, Moser ML, Weber ES III (2014) Surgical insertion of transmitters and telemetry methods in fisheries research. *Am J Vet Res* 75:402–416. doi:10.2460/ajvr.75.4.402
- Saura A (1996) Use of hot branding in marking juvenile pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). *Ann Zool Fenn* 33:617–620
- Shaffi SA (1979) Effects of starvation on tissue and serum gluconeogenic enzymes, alkaline phosphatase and tissue glycogen in the fresh water catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Acta Physiol Acad Sci Hung* 53(4):501–505
- Steenfeldt S, Fontanie P, Overton JL, Policar T, Toner D, Falahatkar B, Horváth Á, Khemis IB, Hamza N, Mhetli M (2015) Current status of Eurasian percid fishes aquaculture. In: Kestemont P, Dabrowski K, Summerfelt RC (ed) *Biology and culture of percid fishes—principles and practices*. Springer, Dordrecht, pp. 817–842.
- Szkudlarek M, Zakęs Z (2007) Effect of stoking density on survival and growth performance of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), larvae under controlled conditions. *Aquacult Int* 15:67–81. doi:10.1007/s10499-006-9069-7
- Thorstad EB, Kerwath SE, Attwood CG, Økland F, Wilke CG, Cowley PD, Næsje TF (2009) Long-term effects of two sizes of surgically implanted acoustic transmitters on a predatory marine fish (*Pomatomus saltatrix*). *Mar Freshw Res* 60:183–186. doi:10.1071/MF08191
- Thorstad EB, Rikardsen AH, Alp A, Økland F (2013) The use of electronic tags in fish research—an overview of fish telemetry methods. *Turk J Fish Aquat Sci* 13:881–896. doi:10.4194/1303-2712-v13_5_13
- Val AL, Affonso EG, Dealmeida VMF (1992) Adaptive features of amazon fishes—blood characteristics of curimata (*Prochilodus cf. nigricans*, osteichthyes). *Physiol Zool* 65:832–843
- Vehanen T, Lahti M (2003) Movements and habitat use by pikeperch (*Stizostedion lucioperca* (L.)) in a hydropeaking reservoir. *Ecol Freshw Fish* 12:203–215. doi:10.1034/j.1600-0633.2003.00026.x
- Wagner GN, Cooke SJ, Brown RS, Deters KA (2011) Surgical implantation techniques for electronic tags in fish. *Rev Fish Biol Fish* 21(1):71–81. doi:10.1007/s11160-010-9191-5
- Winter JD (1996) Advances in underwater biotelemetry. In: Murphy BR, Willis DW (eds) *Fisheries techniques*, 2nd edn. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, pp 555–590
- Zakęs Z (2007) Out-of-season spawning of cultured pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)). *Aquac Res* 38:1419–1427. doi:10.1111/j.1365-2109.2007.01831.x
- Zakęs Z, Hopko M (2013) Tagging juvenile pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) in the cheek with passive integrated transponders (PIT)—impact on rearing indexes and tag retention. *Arch Pol Fish* 21:243–248. doi:10.2478/aopf-2013-0025
- Zakęs Z, Kapusta A, Hopko M, Szczepkowski M, Kowalska A (2015) Growth, survival and tag retention in juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) in laboratory conditions. *Aquac Res* 46:1276–1280. doi:10.1111/are.12283
- Zorriehzahra MJ, Hassan MD, Gholizadeh M, Saidi AA (2010) Study of some hematological and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in western part of Mazandaran province, Iran. *Iran J Fish Sci* 9:185–198

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Ziomek E., Szczerbowski A., Stawecki K., Zakęś Z.
2017 – Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the
physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*) – Arch. Pol. Fish., 25: 89-101,

mój indywidualny wkład w opracowanie koncepcji, wykonanie części eksperymentalnej, opracowanie i interpretację wyników, zbieranie piśmiennictwa i przygotowanie manuskryptu wyżej wymienionej publikacji, składającej się na rozprawę doktorską wyniósł **50%**.

mgr inż. Maciej Rożyński

05.06.2020 Maciej Rożyński

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Ziomek E., Szczerbowski A., Stawecki K., Zakęś Z.
2017 – Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the
physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*) – Arch. Pol. Fish., 25: 89-101,

mój udział procentowy wyniósł **10%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☒

analiza statystyczna

☐

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

dr inż. Andrzej Kapusta

6.06.2020

Andrzej Kapusta

.....
data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Ziomek E., Szczerbowski A., Stawecki K., Zakęś Z.
2017 – Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the
physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*) – Arch. Pol. Fish., 25: 89-101,

mój udział procentowy wyniósł **10%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☒

pisanie pracy

☒

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☐

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☒

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

prof. dr hab. Krystyna Demska-Zakęś

04.06.2020 Demska-Zakęś.....
data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Ziomek E., Szczerbowski A., Stawecki K., Zakęś Z.
2017 – Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the
physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*) – Arch. Pol. Fish., 25: 89-101,

mój udział procentowy wyniósł **5%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☐

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

mgr inż. Elżbieta Ziomek

3.VI.2020 Elzbieta Ziomek
data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Ziomek E., Szczerbowski A., Stawecki K., Zakęś Z.
2017 – Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the
physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*) – Arch. Pol. Fish., 25: 89-101,

mój udział procentowy wyniósł **5%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☒

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☐

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☐

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

dr inż. Andrzej Szczerbowski

05.06.2020 A. Szczerbowski,

data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Ziomek E., Szczerbowski A., Stawecki K., Zakęś Z.
2017 – Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the
physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*) – Arch. Pol. Fish., 25: 89-101,

mój udział procentowy wyniósł **5%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☐

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☒

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☒

zbieranie danych

☐

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☐

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☐

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

mgr inż. Konrad Stawecki

.....05/06/2020.....Stawecki.....
data i podpis

OŚWIADCZENIE AUTORA O UDZIALE W PUBLIKACJI

Ja, niżej podpisany współautor, niniejszym oświadczam, że w artykule:

Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Ziomek E., Szczerbowski A., Stawecki K., Zakęś Z.
2017 – Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the
physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*) – Arch. Pol. Fish., 25: 89-101,

mój udział procentowy wyniósł **15%** całkowitego wkładu w ostateczną wersję wymienionej publikacji naukowej.

Udział autora:

☐

koncepcja pracy,
postawienie hipotez

☐

pisanie pracy

☒

zaplanowanie badań
wybór metodyki badań

☐

graficzne przedstawienie wyników

☐

przewodzenie badań

☐

zbieranie piśmiennictwa

☐

zbieranie danych

☒

konsultacja i opieka

☐

analiza statystyczna

☒

korekta pracy przed złożeniem do
druku

☒

interpretacja wyników

☐

zdobywanie środków finansowych

prof. dr hab. Zdzisław Zakęś

05.06.20..... Z. Zakęś
data i podpis

Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*)

Maciej Rożyński, Andrzej Kapusta, Krystyna Demska-Zakęś, Elżbieta Ziomek, Andrzej Szczerbowski, Konrad Stawecki, Zdzisław Zakęś

Received – 22 December 2016/Accepted – 09 June 2017. Published online: 30 June 2017; ©Inland Fisheries Institute in Olsztyn, Poland
Citation: Rożyński M., Kapusta A., Demska-Zakęś K., Ziomek E., Szczerbowski A., Stawecki K., Zakęś Z. 2017 – Impact of two telemetry transmitter implantation incision suturing methods on the physiological state and condition of perch (*Perca fluviatilis*) – Arch. Pol. Fish. 25: 89-101.

Abstract. The aim of this work was to determine the impact on European perch, *Perca fluviatilis* L. (mean body weight – 78.33 g) of the intraperitoneal implantation of telemetry transmitters using different suturing methods. In the first experiment silk sutures were used (experiment I – group ST), while in the second tissue adhesive was used (experiment II – group GT). Following the procedure, the fish were kept for 42 days in a recirculating system. Differences in growth and condition parameters were only noted in the first week of the experiment. Specimens from group GT had lower values for DGR (daily growth rate) and SGR (specific growth rate), but a higher value for FCR (feed conversion ratio) values. For the hematological parameters, lower values of MCV (mean corpuscular volume) and PLT (blood platelets) were noted in group GT, while for the biochemical parameters, lowered ALP (alkaline phosphatase) activity and Mg (magnesium) concentrations were noted in group ST. In group ST, 33.3% of

the specimens lost their tags, while in group GT 77.8% did so. Differences in incision healing were only noted in the second week, when specimens in group ST were observed to have fully closed incisions, while in group GT 50% of the incisions were open. Despite the high percentage of implantation incision healing in both groups, because of the high values of tag loss rate, neither method can be recommended for perch. It might be more effective to use tag with external antennae in this species. The method use for closing implantation incisions also must be improved to eliminate tag shedding.

Keywords: perch, biochemical profile, hematological profile, tag retention, telemetric, fish tagging

Introduction

Stress is a adaptive mechanism that permits organisms, including fish, to cope with stressors, react to changing conditions, and maintain systemic homeostasis (Chrousos 1998). Stress itself is not dangerous for organisms, but it can become so when it is too strong or lengthy. Such situations can trigger physiological mechanisms and reactions that lead to weakened physical condition (Barton and Iwama 1991). Organisms under stress exhibit primary, secondary, and tertiary reactions. The primary response is in the

M. Rożyński [✉], A. Szczerbowski, Z. Zakęś
Department of Aquaculture, Inland Fisheries Institute in Olsztyn,
Poland
e-mail: m.rozynski@infish.com.pl

A. Kapusta, K. Stawecki
Department of Ichthyology, Hydrobiology, and Aquatic Ecology,
Inland Fisheries Institute in Olsztyn, Poland

K. Demska-Zakęś, E. Ziomek
Department of Ichthyology, Faculty of Environmental Sciences,
University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland

hypothalamus, where stress is recognized. It emits a nerve impulse that is transmitted by the autonomic nervous system. This stimulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, which secretes, inter alia, cortisol and catecholamines as hormonal responses (Nematollahi et al. 2013). These hormones cause biochemical, metabolic, hematological, and immunological changes that are the body's secondary reaction. Chronic stress can cause the final, critical stage of response, which is exhaustion, disease, and even death (Barton and Iwama 1991, Barton 2002, Smircich and Kelly 2014). There are numerous reports in the literature on various manipulations that fish are subjected to in aquaculture, e.g., high stocking density, transport, sorting, and artificial reproduction, that can be sources of stress and which can also have negative impacts on fish well-being and health (Falahatkar and Barton 2007).

A variety of biotelemetry techniques are used in ecology studies and population management for many fish species. Telemetry transmitter are inserted surgically through an abdominal incision, which can be stressful for fish (Smircich and Kelly 2014). The source of stress that accompanies transmitter implantation could be the presence of the tag in the body cavity. Nevertheless, implanting fish with tags permits conducting unique research and observing fish in their natural environment from a greater distance independent of season or time of day (Smircich and Kelly 2014). Thanks to this, we are able to collect more precise, more reliable data than previously on many aspects of fish life, including migration, spawning activity, feeding, etc. (Righton et al. 2001, Smircich and Kelly 2014). Telemetry is a reliable research method under the condition that it does not impact the body, well-being, or behavior of the fish (or, possibly, if it does so only to a slight degree). This condition must be met fully if the data sample collected with telemetry studies are to be representative of entire fish populations (Mellas and Haynes 1985). Thus, it is important to determine whether, and to what extent, tag implantation induces stress in fish.

Hematological, biological, and growth parameters are excellent, reliable indicators of stress (Barton

2002). Stressors cause the release of stress hormones, particularly cortisol, which induce a number of biochemical reactions, such as changes in enzyme activity and concentration, and in levels of glucose, total protein, and magnesium (Hoseini et al. 2016). They can also affect the functioning of the immune system (Smircich and Kelly 2014), as is manifested in the less efficient feed utilization, slower growth rates, decreased fish resistance, and even increased mortality (Smircich and Kelly 2014).

In an effort to broaden the understanding of the stress caused by the implantation of telemetry tags in juvenile European perch, *Perca fluviatilis* L., a range of biochemical and hematological determinations were performed. The healing of post-implantation incisions sutured with two methods (silk sutures or tissue adhesive) and indexes of growth, feed conversion ratio, survival, and short-term tag retention were also analyzed.

Materials and methods

Fish and rearing conditions

Fertilized perch eggs were collected from spawning grounds during the natural spawning period of this species in Lake Dgół Wielki (northern Poland) in early April. They were transported to an earthen pond (0.2 ha surface area) located at the Department of Sturgeon Fish Breeding, Inland Fisheries Institute in Olsztyn (IFI Olsztyn) in northern Poland. Initial perch rearing was done there on natural feed to a size of approximately 0.2 g body weight (BW). The fish were caught in mid-June and transferred to tanks in a recirculating aquaculture system (RAS) (2 tanks with volumes of 2 m³). The perch were trained to consume formulated feed. The feed used was manufactured by Nutreco (Nutra, Trouvit, France), and the feeding procedure was similar to that reported by Policar et al. (2015). The fish were reared under these conditions for approximately ten weeks until they had reached approximately 10 g BW. Next, a portion of this material (approximately 500

individuals) were transferred in polyethylene bags (20 l water + 20 l oxygen) to the Department of Aquaculture (IFI Olsztyn, Poland) (transport time 2 h). The fish were placed in tanks with volumes of 0.2 m³ in a RAS. During rearing in RAS, the following water parameters were maintained: temperature 19.7°C ± 0.1; pH range 7.80–8.01; oxygenation at rearing tank outflows did not decrease below 7.3 mg O₂ l⁻¹; total ammonia nitrogen concentration (TAN = NH₄⁺-N + NH₃-N) measured at rearing tank outflows did not exceed 0.2 mg TAN l⁻¹, and that of nitrites (NO₂-N) did not exceed 0.1 mg NO₂-N l⁻¹. The fish were fed daily for 16 h d⁻¹ with an automated feeder (Fischtechnik GmbH, Nienburg, Germany). The feed used was T-T Nutra MP (Skretting, Holland) with a chemical composition of: protein – 50%, crude fat – 20%, cellulose – 2.4%, ash – 8%.

Experimental groups and tagging

After reaching approximately 70 g BW, all of the fish were anesthetized with etomidate (Propiscin, IFI Olsztyn, Poland, 0.2% etomidate) in an aqueous solution at a concentration of 1.5 ml l⁻¹, tagged intraperitoneally (near the first dorsal fin radius) with passive integrated transponders (PIT; Fish Eagle, Lechlade, Great Britain) (material – bio-glass; length – 12.0 ± 0.4 mm; diameter – 2.12 ± 0.07 mm; weight – 93 mg) (Zakęś and Hopko 2013). Seventy-two fish were tagged. Two experiments were conducted. In experiment I, fish standard length (SL) was 16.28 ± 0.68 cm (mean ± SD), and BW was 78.33 ± 10.01 g (mean ± SD), while in experiment II SL was 15.58 ± 0.51 cm, and BW was 73.07 ± 6.25 g. The two experiments differed in the method used to suture the incision after tags implantation. In experiment I, non-absorbable surgical silk (Jedwab Polski Sp. z o.o., Milanówek, Poland) was used to make two sutures to close the implantation incision, while in experiment II Surgibond tissue adhesive was used (SMI AG, St. Vith, Belgium). The fish in both experiments were surgically implanted with tags (declared weight 0.6 g, length 13 mm, diameter 5 mm; model F1515, ATS Inc., Isanti, MN, USA). The actual weight of the

tags was 0.604–0.653 g (mean 0.63 g). The relative weight of the tags in both experiments was < 1.01% perch BW. Before tags implantation, the perch were anesthetized in an aqueous solution of etomidate (Propiscin, IFI Olsztyn, Poland) at a concentration of 1.5 ml l⁻¹. After 3–4 min, the fish were in a state of general anesthesia that was apparent from the lack of balance and no reaction to external stimuli (Rożyński et al. 2016). The transmitter was implanted in the body cavity through a 10–15 mm incision approximately 20 mm anterior to the base of the pectoral fin, and the antenna was directed outside the body cavity between the pectoral and anal fins (Wagner et al. 2011). After the procedure, the incision was disinfected with Betadine (Lavipharm, Peania, Greece). The length of the transmitter implantation procedure using the two methods was timed (± 1 s). After implantation the fish were held in containers (volume 0.08 m³) with fresh, aerated water until they recovered basic vital functions. In each of the experiments, 18 individuals were tagged (experiment I – silk sutures, group ST; experiment II – tissue adhesive, group GT) and then stocked into three rearing tanks with volumes of 0.2 m³ (6 individuals per tank). The fish from the control group (18 individuals tagged only with PIT; experiment I – group SC; experiment II – group GC) were subjected to the same procedure as the experimental fish (excluding the incision and transmitter implantation) and were stocked into three rearing tanks (6 individuals per tank). The mean stocking biomass in the tanks was 2.34 kg m⁻³ (experiment I) and 2.27 kg m⁻³ (experiment II). The fish were reared for six weeks in both experiments.

Measurements of water temperature (± 0.1°C) and oxygen concentration (± 0.01 mg O₂ l⁻¹) were taken daily at the rearing tank inflows and outflows. The other water parameters, i.e., TAN (± 0.01 mg TAN l⁻¹), NO₂-N (± 0.01 mg NO₂-N l⁻¹), and pH (± 0.01) were measured at the tank outflows weekly. In both experiments the mean water temperature was 21.0°C ± 0.1. The oxygen concentration at the tank outflows did not decrease below 7.43 O₂ l⁻¹ (83.9% saturation) in experiment I or 7.36 O₂ l⁻¹ (83.5% saturation) in experiment II. The oxygen concentration at

Table 1

Assessment criteria for silk suture/tissue adhesive retention, macroscopic assessment of incisions, and changes in implantation incisions of perch tagged with telemetry transmitters

Rank	Rating criterion
Assessment criteria for silk suture/tissue adhesive retention (Deters et al. 2010)	
0	Lack of silk sutures/tissue adhesive
1	Silk sutures/tissue adhesive partially cover incision
2	Silk sutures/tissue adhesive fully cover incision
Macroscopic assessment criteria of incision site (Miller et al. 2014)	
0	Incision fully closed and healed/no trace of incision
1	Incision fully closed but not healed
2	Incision healing, sides of incision only partially connected with tissue
3	Incision healing, but sides of incision not closed/not connected with tissue
4	Less than 50% of incision open
5	More than 50% of incision open
6	Incision fully open
Assessment criteria for implantation incision	
0	Clean incision
1	Some redness
2	Inflammation
3	Infection/necrosis

the tank inflows remained within the range of 90–98% saturation. The concentration of TAN and $\text{NO}_2\text{-N}$ at the tank outflows did not exceed $0.08 \text{ mg TAN l}^{-1}$ and $0.019 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$ (experiment I) and $0.08 \text{ mg TAN l}^{-1}$ and $0.013 \text{ mg NO}_2\text{-N l}^{-1}$ (experiment II). Water pH at the tank outflows in experiment I ranged from 7.74 to 7.93, while in experiment II it was 7.75 to 7.99. The fish in both experiments were fed the same Aller Bronze 3 mm feed with the following chemical composition: protein – 45%, crude fat – 15%, carbohydrates – 24%, cellulose – 3%, ash – 7%, and a digestible energy of 17.6 MJ kg^{-1} (AllerAqua, Denmark). The feed was delivered with an automated feeder (Fischtechnik GmbH, Nienburg, Germany) for 18 h d^{-1} (09:00–03:00). The feed ratio was determined weekly at 1.5% fish biomass.

Study procedures

Immediately before transmitter implantation, all of the fish were measured ($\text{SL} \pm 0.1 \text{ cm}$) and weighed ($\text{BW} \pm 0.01 \text{ g}$). Measurements of individual fish were taken, and the state of the silk sutures or tissue adhesive (Table 1; Deters et al. 2010) and the healing of the implantation incision were assessed (Table 1; Miller et al. 2014) weekly (on day 7 (d7), d14, d21, d28, d35, d42). Throughout the experiment the occurrence of redness, edema, inflammation, infection, and/or tissue necrosis at the incision site was also monitored (Table 1). During measurements, each specimen was identified with a PIT tag reader (Fish Eagle, Lechlade, Great Britain). The data collected permitted calculating the following parameters: daily

growth rate – DGR (g d^{-1}) = $(\text{BW}_2 - \text{BW}_1) \times t^{-1}$; specific growth rate – SGR ($\% \text{ d}^{-1}$) = $100 \times (\ln \text{BW}_2 - \ln \text{BW}_1) \times t^{-1}$; Fulton's condition coefficient – $F = 100 \times \text{BW} \times \text{SL}^{-3}$; feed conversion ratio – $\text{FCR} = \text{TFS} \times (\text{FB} - \text{IB})^{-1}$, where: BW_1 – initial fish body weight (g), BW_2 – final fish body weight (g), t – rearing time (days), SL – fish standard length (cm), FB – final stock biomass (g), IB – initial stock biomass (g), TFS – total feed supply (g). Additionally, the possible occurrence of PIT and/or transmitter and fish mortality in the rearing tanks was monitored daily.

On the final day of the experiment (d42), approximately 1 mm^3 of blood was drawn directly from the caudal vein of each specimen with a heparinized syringe (Smiths Medical International ASD, Inc., St. Paul, Minnesota, USA). The samples were used to determine the following hematological parameters: white blood cell count (WBC); red blood cell count (RBC); hemoglobin (HGB); hematocrit (HCT); platelets (PLT); and the following erythrocyte indexes: mean corpuscular volume (MCV); mean corpuscular hemoglobin (MCH); and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC). Portions of the blood samples were centrifuged at a speed of 4000 rpm for 3 min (Fresco 17, Thermo Scientific, Waltham, USA). The material obtained was used to determine the following biochemical indexes: creatinine (CREA); total protein (TP); total bilirubin (BIL-T); alanine aminotransferase (ALT); alkaline phosphatase (ALP); calcium (Ca); albumin (ALB); globulin (GLB); glucose (GLU); magnesium (Mg); ammonia (NH_3). Hematological measurements were done with a BC-2800 VET semi-automatic hematology analyzer (Mindray, Shenzhen, China), while biochemical measurements were done with a BS-120 automatic chemistry analyzer (Mindray, Shenzhen, China).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed with Statistica 12 (StatSoft, Inc., USA). The data were tested to determine if they met the criteria for normal distribution. Levene's test was used to check the homogeneity of

variance. The statistical significance of data on growth and incision status was verified with repeated measures variance analysis (ANOVA). Further analysis was performed with post-hoc Tukey's test. However, the statistical significance of the hematological and biochemical indices was checked with the Mann-Whitney U test.

Results

The implantation and suturing procedure in experiment I was, on average, 2 min 25 s (range 01:59 – 02:59), while that with tissue adhesive in experiment II was 1 min 14 s (range 01:02–01:45), which was about 50% of that in experiment I. In experiment I (silk sutures), no significant differences were noted between the growth, condition, or FCR parameters in group SC vs. group ST. This result refers to the specific weeks of the experiment and to the entire period during which the fish were held in the RAS (Table 2; $P > 0.05$). In experiment II (tissue adhesive), after the first week following tags implantation, the fish from group GT exhibited a significantly lower growth rate (DGR, SGR) and a higher FCR than in control group GC (Table 2; $P < 0.05$). Beginning in the second week, the values of these indexes in groups GT and GC were similar and remained so until the conclusion of the experiment (Table 2). Mortality was only noted in experiment II. One specimen each died in groups GT and GC. The losses occurred at the end of the experiment, i.e., in the fifth week in group GT and in the sixth in group GC (Table 2).

Statistically significant differences were confirmed when assessing the retention of silk sutures (group ST) or tissue adhesive (group GT) up to the third week of the experiment (Table 1; Fig. 1; $P < 0.05$). In group ST, the silk sutures were lost at an equal rate throughout experiment I, while in most cases in group GT the tissue adhesive peeled off within the first week of implanting the tags (experiment II). The loss of sutures, either silk or tissue adhesive, was directly correlated with transmitter shedding. During the course of the experiment, six specimens from group ST shed their transmitter, mainly in weeks three to five in experiment I (33.3%

Table 2

Rearing parameters of perch (*P. fluviatilis*) tagged with radio transmitter (experiment I – control group (SC) and group with silk sutures (ST) and experiment II – control group (GC) and group with tissue adhesive (GT)) on subsequent days of rearing (d0 – day of tag implantation, d7, d14, d21, d28, d35, d42, respectively, 7, 14, 21, 28, 35, 42 days after tag implantation) (mean values \pm SD, n = 18). Details in Materials and methods section. Groups with different letter indexes within one experiment differ significantly statistically ($P \leq 0.05$)

Parametr / day of rearing	Experiment I		Experiment II	
	Group SC	Group ST	Group GC	Group GT
Standard length (cm)				
d0	16.02 (\pm 0.69)	16.28 (\pm 0.68)	15.88 (\pm 0.41)	15.58 (\pm 0.51)
d42	17.19 (\pm 0.79)	17.21 (\pm 0.83)	17.15 (\pm 0.61)	16.61 (\pm 0.44)
Body weight (g)				
d0	80.92 (\pm 10.63)	77.70 (\pm 10.020)	76.79 (\pm 6.83)	72.44 (\pm 6.26)
d7	83.49 (\pm 11.88)	78.68 (\pm 10.75)	79.56 (\pm 6.98)	72.81 (\pm 5.94)
d14	86.86 (\pm 12.54)	81.77 (\pm 11.76)	82.72 (\pm 7.37)	75.92 (\pm 6.75)
d21	90.26 (\pm 12.99)	84.98 (\pm 12.90)	85.13 (\pm 8.22)	77.72 (\pm 6.96)
d28	93.76 (\pm 14.25)	88.52 (\pm 14.19)	87.20 (\pm 8.95)	80.33 (\pm 6.78)
d35	97.35 (\pm 15.61)	91.68 (\pm 15.17)	90.46 (\pm 9.59)	82.96 (\pm 7.39)
d42	100.97 (\pm 16.46)	95.22 (\pm 16.59)	93.54 (\pm 11.50)	85.37 (\pm 7.63)
Daily growth rate (g d ⁻¹)				
d0-d7	0.37 (\pm 0.37)	0.14 (\pm 0.24)	0.39 (\pm 0.20) ^b	0.05 (\pm 0.27) ^a
d7-d14	0.48 (\pm 0.28)	0.44 (\pm 0.30)	0.45 (\pm 0.18)	0.44 (\pm 0.27)
d14-d21	0.49 (\pm 0.25)	0.46 (\pm 0.24)	0.34 (\pm 0.18)	0.26 (\pm 0.21)
d21-d28	0.50 (\pm 0.26)	0.51 (\pm 0.26)	0.30 (\pm 0.19)	0.37 (\pm 0.20)
d28-d35	0.51 (\pm 0.29)	0.45 (\pm 0.27)	0.47 (\pm 0.23)	0.39 (\pm 0.19)
d35-d42	0.52 (\pm 0.43)	0.51 (\pm 0.27)	0.38 (\pm 0.38)	0.34 (\pm 0.32)
d0-d42	0.48 (\pm 0.25)	0.42 (\pm 0.23)	0.39 (\pm 0.19)	0.30 (\pm 0.14)
Specific growth rate (% d ⁻¹)				
d0-d7	0.43 (\pm 0.44)	0.16 (\pm 0.29)	0.51 (\pm 0.24) ^b	0.08 (\pm 0.37) ^a
d7-d14	0.56 (\pm 0.33)	0.54 (\pm 0.36)	0.56 (\pm 0.20)	0.59 (\pm 0.35)
d14-d21	0.55 (\pm 0.32)	0.53 (\pm 0.26)	0.40 (\pm 0.19)	0.33 (\pm 0.27)
d21-d28	0.53 (\pm 0.26)	0.56 (\pm 0.26)	0.34 (\pm 0.20)	0.48 (\pm 0.25)
d28-d35	0.52 (\pm 0.28)	0.49 (\pm 0.29)	0.52 (\pm 0.24)	0.48 (\pm 0.22)
d35-d42	0.51 (\pm 0.45)	0.52 (\pm 0.25)	0.38 (\pm 0.45)	0.41 (\pm 0.38)
d0-d42	0.51 (\pm 0.27)	0.47 (\pm 0.24)	0.45 (\pm 0.19)	0.39 (\pm 0.17)
Fulton's condition coefficient				
d0	1.96 (\pm 0.12)	1.80 (\pm 0.11)	1.91 (\pm 0.10)	1.92 (\pm 0.14)
d7	1.92 (\pm 0.12)	1.80 (\pm 0.12)	1.91 (\pm 0.07)	1.91 (\pm 0.15)
d14	1.95 (\pm 0.12)	1.86 (\pm 0.11)	1.92 (\pm 0.07)	1.89 (\pm 0.16)
d21	1.91 (\pm 0.14)	1.84 (\pm 0.11)	1.77 (\pm 0.08)	1.76 (\pm 0.12)
d28	1.93 (\pm 0.13)	1.84 (\pm 0.12)	1.86 (\pm 0.08)	1.89 (\pm 0.14)
d35	1.94 (\pm 0.15)	1.88 (\pm 0.13)	1.87 (\pm 0.09)	1.88 (\pm 0.12)
d42	1.97 (\pm 0.14)	1.85 (\pm 0.13)	1.85 (\pm 0.09)	1.86 (\pm 0.13)

Cont. Table 2

Parametr / day of rearing	Experiment I		Experiment II	
	Group SC	Group ST	Group GC	Group GT
Feed conversion ratio*				
d0-d7	4.59 (\pm 3.84)	12.64 (\pm 8.65)	2.84 (\pm 0.69) ^a	16.56 (\pm 13.57) ^b
d7-d14	2.70 (\pm 0.65)	3.01 (\pm 1.34)	2.68 (\pm 0.29)	2.50 (\pm 0.30)
d14-d21	2.73 (\pm 0.44)	2.88 (\pm 0.90)	4.15 (\pm 1.88)	5.02 (\pm 2.22)
d21-d28	2.72 (\pm 0.23)	2.73 (\pm 0.67)	5.11 (\pm 2.70)	4.08 (\pm 2.76)
d28-d35	2.75 (\pm 0.22)	2.98 (\pm 0.34)	2.80 (\pm 0.19)	3.11 (\pm 0.36)
d35-d42	3.12 (\pm 1.21)	2.84 (\pm 0.62)	3.65 (\pm 1.37)	3.57 (\pm 1.13)
d0-d42	2.82 (\pm 0.51)	3.13 (\pm 0.70)	3.28 (\pm 0.80)	3.73 (\pm 0.58)
Tag loss rate (ind., %)				
d0-d7	-	0	-	0
d7-d14	-	0	-	4 (22.2)
d14-d21	-	1 (5.6)	-	7 (38.9)
d21-d28	-	2 (11.1)	-	3 (16.7)
d28-d35	-	1 (5.6)	-	0
d35-d42	-	2 (11.1)	-	0
d0-d42	-	6 (33.3)	-	14 (77.8)
Mortality (%)				
d0-d42	0	0	5.6	5.6

*FCR was calculated for rearing tanks (n = 3)

tagged fish), while in group GT, 14 specimens (77.8%) loss their tag, mainly in weeks two to four in experiment II (Table 2).

Observations of incision healing indicated that only in week two were there statistically significant differences in the speed of incision healing (Table 1; Fig. 2; $P < 0.05$). Significant progress in incision healing from rank 5 to 2 was noted in group ST. However, after the second week of the experiment little progress was observed in the fish from group GT with incision healing progressing from rank 5 to between ranks 5 and 4. After the third week following tag implantation, the incision healing assessments of the two groups were very similar, and the healing rate in both groups oscillated around rank 2 (Table 1; Fig. 2; $P > 0.05$). No further statistically significant

differences were noted through to the end of the experiment, and observations of both groups indicated that incision healing after six weeks was rank 1 (Table 1; Fig. 2; $P > 0.05$).

The percentage of specimens in each of the experiments exhibiting some redness at the tag implantation incision site was similar (Table 3; Fig. 3; $P > 0.05$). The most specimens exhibiting this symptom were noted after the first week of the experiment (experiment I – 66.7%, experiment II – 61.1%). In subsequent weeks, the number of fish with this symptom decreased. After six weeks, only one specimen from both experiments exhibited this symptom (5.56%). However, clear inflammation was observed only in experiment II (tissue adhesive) in three specimens. In the first week after implantation, two specimens from

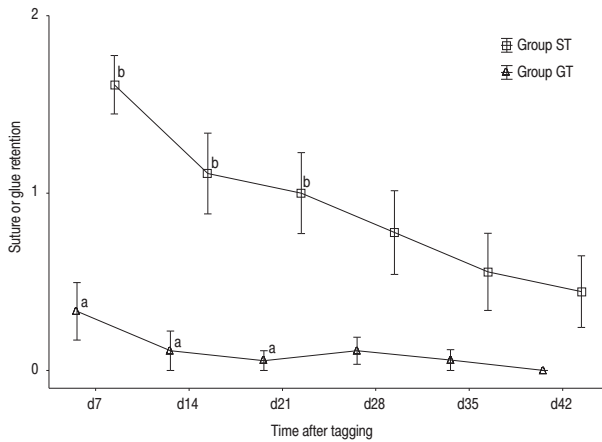


Figure 1. Retention of silk sutures or tissue adhesive in two groups of perch (*P. fluviatilis*) in which two suturing methods were used after transmitter implantation (silk suture group (ST) and tissue adhesive group (GT)) (see Table 1). Groups with different letter indexes within one week differ significantly statistically ($P \leq 0.05$) (mean values \pm SE).

group GT exhibited this symptom (which subsided after a week), while in the second week of the experiment this symptom appeared in another specimen and persisted until the end of the experiment. Difference between groups ST and GT throughout the experiment were not statistically significant (Fig. 3; $P > 0.05$). Throughout the experiment, no specimens in either group were noted to have had infection or necrosis at the transmitter implantation incision site.

No statistically significant differences were noted among the hematological parameters tested in experiment I (Table 3; $P > 0.05$), while in experiment II significant differences were noted in the values of MCV and PLT (Table 4; $P < 0.05$). The MCV in group GT was approximately 6% lower than in control group GC, while the PLT value in group GT compared to that in group GC was approximately 26% lower.

The biochemical tests indicated significantly lower activity (by approximately 40%) of the enzyme ALP and lowered magnesium concentrations (by approximately 10%) in group ST in experiment I (Table 4; $P < 0.05$). No statistically significant intergroup differences were noted in any of the other parameters tested in experiment I or in any of those tested in experiment II (Table 4; $P > 0.05$).

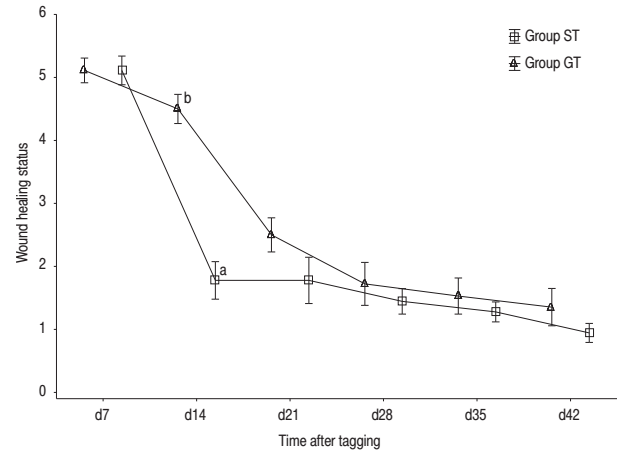


Figure 2. Incision healing in two groups of perch (*P. fluviatilis*) in which two suturing methods were used after transmitter implantation (silk suture group (ST) and tissue adhesive group (GT)) (see Table 1). Groups with different letter indexes within one week differ significantly statistically ($P \leq 0.05$) (mean values \pm SE).

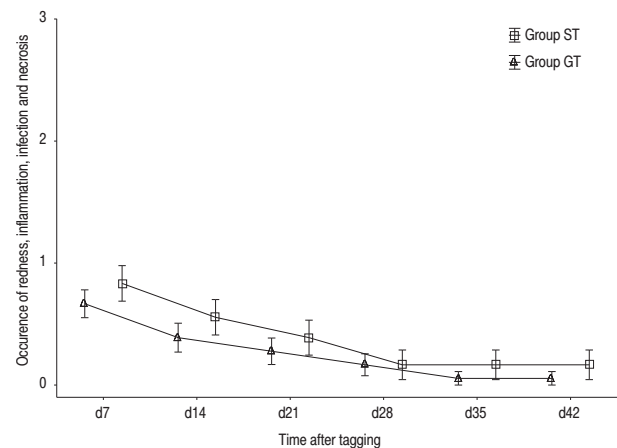


Figure 3. Occurrence of redness, inflammation, and infection/necrosis in two groups of perch (*P. fluviatilis*) in which two suturing methods were used after transmitter implantation (silk suture group (ST) and tissue adhesive group (GT)) (see Table 1). Groups with different letter indexes within one week differ significantly statistically ($P \leq 0.05$) (mean values \pm SE).

Discussion

The advantage of using surgical tissue adhesive to suture transmitter implantation incisions is undoubtedly the brevity of the procedure. In the current study, the average tag implantation time when using tissue adhesive was half as long as that when using

Table 3

Hematological indexes in two groups of perch (*P. fluviatilis*) in which different transmitter implantation suturing methods were applied (experiment I – control group (SC) and silk suture group (ST) and experiment II – control group (GC) and tissue adhesive group (GT)) (mean values \pm SD, n = 18). Details in Materials and methods section. Groups with different letter indexes within a given experiment differ significantly statistically ($P \leq 0.05$)

Parameters	Units	Experiment I		Experiment II	
		Group SC	Group ST	Group GC	Group GT
WBC	$10^3 \mu\text{l}^{-1}$	127.66 (\pm 15.32)	133.74 (\pm 19.42)	125.96 (\pm 16.36)	120.83 (\pm 25.72)
RBC	$10^6 \mu\text{l}^{-1}$	1.67 (\pm 0.19)	1.68 (\pm 0.14)	1.58 (\pm 0.14)	1.46 (\pm 0.17)
HGB	g l^{-1}	38.09 (\pm 5.68)	38.56 (\pm 3.79)	39.38 (\pm 6.21)	33.91 (\pm 4.22)
HCT	%	30.76 (\pm 3.95)	31.18 (\pm 2.69)	30.56 (\pm 4.09)	26.41 (\pm 3.67)
MCV	fl	142.21 (\pm 7.35)	143.41 (\pm 4.74)	148.82 (\pm 10.50) ^b	139.90 (\pm 8.76) ^a
MCH	pg	27.76 (\pm 2.36)	27.99 (\pm 1.59)	30.21 (\pm 3.05)	28.42 (\pm 2.66)
MCHC	g l^{-1}	195.17 (\pm 9.48)	195.46 (\pm 8.33)	203.00 (\pm 9.39)	203.30 (\pm 10.65)
PLT	$10^3 \mu\text{l}^{-1}$	24.00 (\pm 6.38)	25.08 (\pm 9.00)	21.38 (\pm 6.06) ^b	15.90 (\pm 3.67) ^a

Table 4

Biochemical indexes in two groups of perch (*P. fluviatilis*) in which different transmitter implantation suturing methods were applied (experiment I – control group (SC) and silk suture group (ST) and experiment II – control group (GC) and tissue adhesive group (GT)) (mean values \pm SD, n = 18). Details in Materials and methods section. Groups with different letter indexes within a given experiment differ significantly statistically ($P \leq 0.05$)

Parameters	Units	Experiment I		Experiment II	
		Group SC	Group ST	Group GC	Group GT
CREA	mg dl^{-1}	0.15 (\pm 0.09)	0.17 (\pm 0.16)	0.43 (\pm 0.99)	0.11 (\pm 0.08)
TP	g dl^{-1}	4.34 (\pm 0.62)	4.08 (\pm 0.45)	3.72 (\pm 1.27)	4.01 (\pm 0.20)
BIL-T	mg dl^{-1}	0.17 (\pm 0.10)	0.22 (\pm 0.16)	0.23 (\pm 0.16)	0.18 (\pm 0.07)
ALT	U l^{-1}	33.29 (\pm 39.13)	21.77 (\pm 46.07)	28.86 (\pm 32.45)	23.25 (\pm 31.24)
ALP	U l^{-1}	42.79 (\pm 13.83) ^b	25.54 (\pm 9.51) ^a	35.86 (\pm 16.20)	37.33 (\pm 23.97)
Ca	mg dl^{-1}	12.56 (\pm 1.09)	11.98 (\pm 0.77)	11.94 (\pm 1.54)	11.58 (\pm 0.59)
ALB	g dl^{-1}	1.60 (\pm 0.19)	1.54 (\pm 0.14)	1.41 (\pm 0.25)	1.49 (\pm 0.08)
GLOB	g dl^{-1}	2.74 (\pm 0.46)	2.54 (\pm 0.35)	2.58 (\pm 0.49)	2.52 (\pm 0.16)
GLU	mg dl^{-1}	146.07 (\pm 63.64)	116.38 (\pm 49.06)	123.93 (\pm 53.03)	102.58 (\pm 53.62)
Mg	mg dl^{-1}	2.49 (\pm 0.33) ^b	2.24 (\pm 0.32) ^a	2.54 (\pm 0.27)	2.54 (\pm 0.31)
NH ₃	$\mu\text{g dl}^{-1}$	487.04 (\pm 93.30)	420.42 (\pm 132.56)	470.32 (\pm 138.03)	388.38 (\pm 86.77)

silk sutures. Fish tagging procedures that are too long can result in various undesirable side effects including increased exposure to stress and prolonged recovery from anesthesia that can even result in death (Neely et al. 2009). Noteworthy, even the time required to perform the transmitter implantation procedure and suturing with surgical silk (2 min 25 s) in the current study was within the time period recommended in the literature for this type of procedure (Sandstrom et al. 2013).

Low stock biomass growth was noted in both groups, but particularly in group GT, of fish tagged with radio transmitter after the first week of the experiment in comparison to the control groups. A slight decrease in the value of this parameter was even observed in one of the tanks stocked with fish from group GT; however, 14 days after tagging the perch with radio transmitter and until the conclusion of the study, differences in growth rates were not significant. Discernibly lower fish body weight increases shortly following tagging are reported in other studies of percid fishes, which were tagged with, for example, PIT (Baras et al. 2000, Zakęs and Hopko 2013). Similar observations are reported in juvenile Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Wal.) (BW 50.5 g) tagged with acoustic transmitter (3.6% of the fish BW), when lower body weight increases in the tagged fish group occurred until day 35 of the experiment. However, despite the lower values of this parameter in the first phase of the experiment, similarly to the case of the current study, the final body weight values were comparable to those observed in the control group of untagged fish (Ammann et al. 2013). Tagging juvenile European seabass, *Dicentrarchus labrax* (L.) (BW 173 g) intraperitoneally with dummy tags also did not impact final body weight values. However, lower growth was observed in a group of fish tagged with external tags (Anras et al. 2003). Similarly, juvenile green sturgeon, *Acipenser medirostris* Ayres (BW 347 g) were studied to assess the impact surgical implantation transmitter (1.31% of the fish BW) had on growth after 140 days of rearing; no statistically significant differences were noted in either total length

or body weight in any of the groups (Miller et al. 2014). The results of the current study could indicate that the reaction of a given species to tag implantation could also depend on the method used to suture the incision after implantation. It was precisely in group GT in the first week following radio transmitter implantation that significantly lower values of growth indexes DGR and SGR were noted. The FCR coefficient that was nearly sixfold higher than that in the control group should be noted as it undoubtedly indicates that the fish in this group consumed only a slight amount of food in the first week of the experiment. Similar results are reported for juvenile European seabass (BW 173 g) tagged with intraperitoneal transmitter (2.4% of the fish BW). In the first weeks after tags implantation higher values were noted in FCR, and these did not decrease until three weeks following tagging (Anras et al. 2003). The phenomenon of a significant decrease in growth and FCR indexes were not, however, noted in juvenile pikeperch, *Sander lucioperca* (L.) (BW 60 g) that were subjected to the same radio transmitter tagging procedure as the perch in the present study (M. Rożyński et al., unpublished materials). This could indicate that the reaction to the tag implantation procedure could be species specific.

It is noteworthy that high FCR values were confirmed in all of the groups, including the controls, in the current study, and they were higher than those routinely noted when feeding perch formulated feed (Polcar et al. 2015). It is highly likely that this can be explained by the frequent manipulations the fish were subjected to during the weekly individual examinations.

High levels of tag rate were noted in juvenile perch. During the six weeks of the experiment, 33.3% of the fish in group ST lost their tags, while in group GT 77.8% of them did. In experiment I, the radio tags were lost between weeks three and six, while in experiment II this occurred between weeks two and four. Tag loss rate over such a long period of time during the experiment was undoubtedly linked with the use of silk sutures and tissue adhesive at the transmitter implantation site. The silk sutures

remained in the incision site longer and held the two edges of the incision longer than did the tissue adhesive, which, in most instances, peeled off during the first week of the experiment.

High tag loss was observed in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Wal.) tagged with acoustic tags of various sizes (Sandstrom et al. 2013). Throughout the 143-day study, in the group of trout (BW 112 g) tagged with larger tags (2.3% of the fish BW) 25% of the specimens shed tags (10 of 40 specimens), while in the group of smaller fish (BW 108 g) tagged with smaller tags (1.7% of the fish BW) 15% of the fish shed tags (6 of 40 specimens). No differences in body weight among the specimens that retained or lost tags were confirmed in either group (Sandstrom et al. 2013). In the current study, most of the tags were shed through the implantation incision in both experiments, and only in one case was the tag lost through the antenna exit site. Some of the tags in the rainbow trout were shed through the implantation incision, while the other tags were lost from other sites (Sandstrom et al. 2013). Chisholm and Hubert (1985) report that tags can also be shed through the digestive tract. However, in the present study such a case was not observed. No tag shedding was noted in Chinook salmon (BW 50.5 g) throughout the 221-day study (Ammann et al. 2013). These authors attribute the high tags retention to low water temperature and fish activity. In another study conducted on the same species in a similar developmental stage, but in which the fish were held at higher temperatures, numerous tags were shed. The high tags shedding in the current study can be explained by perch behavior. This species is a shoaling fish, and interactions among individuals are strong (Magnhagen 2015). Observations of the tanks in which the fish were held indicated that the perch attacked the radio tags antennae of other specimens. This resulted in the tag moving inside the body cavity, slower healing or separation of the implantation incision, and, in extreme cases, tag shedding. It should be noted that in pikeperch of a similar size that were subjected to the same radio transmitters implantation procedure and held under the same conditions, tag retention (after

35 days) in specimens in which incisions were sutured with either silk sutures or surgical tissue adhesive was > 90% (M. Rożyński et al., unpublished materials). This fact confirms the significant impact that the behavior of a given species has on the outcome of using telemetry tags.

In both groups of tagged fish both the silk sutures and the tissue adhesive remained in place at the incision site for a short time. Most of the specimens group ST lost the silk sutures in the second or third week after implantation, while the surgical tissue adhesive (group GT) peeled off in the first week after the procedure. From the fourth week, the rank of the assessment of silk sutures and tissue adhesive was 0 (lack of sutures) or 1 (silk sutures/tissue adhesive partially cover incision) (Deters et al. 2010). While tissue adhesive usually remains in place on an incision for about one week, closing an incision with non-absorbable sutures should be more durable (Thorstad et al. 2013). In rainbow trout (BW 100 g) the majority of non-absorbable sutures were lost during a 64-day study, and only in two specimens (5%) did the sutures remain in place until the conclusion of the experiment (d64) (Sandstrom et al. 2013). In a study of largemouth black bass, *Micropterus salmoides* (Lacepède) implanted with acoustic telemetry devices, Caputo et al. (2009) observed sutures as long as a year after the implantation procedure (17.6%). The fast suture loss in the current study of perch was probably the result of interactions among individuals, which included specimens grabbing and tugging the ends of the sutures that they reacted to as if they were potentially food.

In experiment I, the incisions of most of the specimens were already healing (rank 2) in the second week of the study, and slight progress was noted in subsequent weeks; however, during this time six fish shed their tags through the implantation incision. In experiment II, numerous tags were lost through the implantation incision, because the tissue adhesive peeled off in the first week of the experiment before the edges of the incision were closed (rank 4-5), and numerous tags were shed through the implantation incision. In group GT, incision healing (rank 2) was

observed in the third and fourth weeks, but most of the specimens had, by this time, shed their tags from the body cavity. On the last day of the experiment, 22% of the specimens in group ST had fully healed incisions (the incision site was practically imperceptible), while 61% of them were healed and the incision was visible. In comparison, with group GT, fully healed incisions were noted in a smaller number of specimens (6%), while healed incisions in which the incision remained visible was noted in a greater number of specimens (82%). In juvenile European seabass (BW 173 g), 30% of specimens had fully healed implantation incisions after 47 days (end of experiment) (Anras et al. 2003), while in Chinook salmon (BW 50.5 g) tagged intraperitoneally with acoustic tags, all incisions (100%) were fully closed after 34 days of the experiment and at 104 days the incisions were barely perceptible (100%) (Ammann et al. 2013). In the present study, the healing of implantation incisions was successful, without complications caused by infection, and the incisions were in similar states in the various weeks of the experiment in both groups of fish (ST, GT) tagged with radio tags. As early as two weeks after tag implantation, the incisions of most of the specimens (61-51%) were clean and partially healed. Incision redness was noted in approximately 39% of the fish in group ST and 44% of the fish from group GT. Additionally, three specimens from group GT were observed to have inflamed incisions (in two fish until the second week of the study, and in one perch from weeks two to six). These symptoms were evidently linked with the relatively easy opening of the implantation incisions that had been sutured with tissue adhesive and tag shedding. It can be concluded that both of the implantation suturing methods were safe for perch, but better results (e.g., higher tag retention) can be achieved when silk surgical sutures are used.

Changes in the hematological profile of perch tagged with radio tags in comparison to the control group were only observed in group GT. Lower MCV and PLT values could be evidence of lowered iron

levels and disruptions in water-electrolyte balance. The causes of these changes were doubtless the longer incision healing time in group GT that resulted in excessive blood loss (Neves et al. 2016). ALP activity and systemic magnesium concentration are closely correlated in the body, and contribute to the creation of bone tissue and the maintenance of homeostasis. The lowered levels of these two indexes in group ST could indicate impaired liver function associated with the synthesis of factors responsible for systemic balance, increased protein catabolism, and wound healing. Low ALP activity could stem directly from a decelerated rate of glycogen synthesis, malnutrition, or the wasting/exhaustion of the body (Shaffi 1979).

The radio tags implantation method used in juvenile perch with two methods of implantation suturing did not negatively affect growth parameters or physiological processes. Despite the high percentage of fish with healed incisions in both experiments, the high number of tags shed means that neither of the two methods studied can be recommended for radio tags implantation in perch as was done in the study. For perch it might be more effective, for example, to use transmitters with internal antennae. The implantation suturing method also needs to be improved to increase the tags retention index.

Acknowledgments. This study was funded as part of project number IRS-046-35/-1.1/1/2016 “Impact of telemetry transmitter implantation on the welfare of pikeperch (*Sander lucioperca*) and perch (*Perca fluviatilis*)” and statutory topic S-028 of the Inland Fisheries Institute in Olsztyn. The research presented in the submitted manuscript was conducted in accordance with ethical standards (Permission no. 24/2011, 30.03.2011).

Author contributions. M.R., A.K. and Z.Z. conceived/designed the study with contributions from K.D.Z.; M.R., A.K., E.Z., A.S., K.S. collected data; M.R., A.K. and Z.Z. analysed the data and prepared figures; Z.Z., A.K. and M.R. coordinated the study and led the writing and revisions, to which all authors contributed. All authors gave final approval for publication.

References

- Ammann A.J., Michel C.J., MacFarlane R.B. 2013 – The effects of surgically implanted acoustic transmitters on laboratory growth, survival and tag retention in hatchery yearling Chinook salmon – *Environ. Biol. Fish.* 96: 135-143.
- Anras M.L.B., Covés D., Dutto G., Laffargue P., Lagardère F. 2003 – Tagging juvenile seabass and sole with telemetry transmitters: medium-term effects on growth – *ICES J. Mar. Sci.* 60: 1328-1334.
- Baras E., Malbrouck Ch., Houbart M., Kestemont P., Mélard Ch. 2000 – The effect of PIT tags on growth and physiology of age-0 cultured Eurasian perch *Perca fluviatilis* of variable size – *Aquaculture* 185: 159-173.
- Barton B.A. 2002 – Stress in Fish: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids – *Integr. Comp. Biol.* 42: 517-525.
- Barton B.A., Iwama G.K. 1991 – Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids – *Ann. Rev. Fish Dis.* 1: 3-26.
- Caputo M., O'Connor C.M., Hasler C.T., Hanson K.C., Cooke S.J. 2009 – Long-term effects of surgically implanted telemetry tags on the nutritional physiology and condition of wild freshwater fish – *Dis. Aquat. Org.* 84: 35-41.
- Chisholm I.M., Hubert W.A. 1985 – Expulsion of dummy transmitters by rainbow trout – *Trans. Am. Fish. Soc.* 114: 766-767.
- Chrousos G.P. 1998 – Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response – *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 851: 311-335.
- Deters K.A., Brown R.S., Carter K.M., Boyd J.W., Eppard M.B., Seaburg A.G. 2010 – Performance assessment of suture type, water temperature, and surgeon skill in juvenile chinook salmon surgically implanted with acoustic transmitters – *Trans. Am. Fish. Soc.* 139: 888-899.
- Falahatkar B., Barton B.A. 2007 – Preliminary observations of physiological responses to acute handling and confinement in juvenile beluga (*Huso huso*) – *Aquacult. Res.* 38: 1786-1789.
- Hoseini S.M., Tort L., Abolhasani M.H., Rajabierabadi H. 2016 – Physiological, ionoregulatory, metabolic and immune responses of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) to stress – *Aquacult. Res.* 47: 3729-3739.
- Magnhagen C. 2015 – Behaviour in Percid fishes in the wild and its relevance for culture – In: *Biology and culture of percid fishes - principles and practices* (Eds) P. Kestemont, K. Dabrowski, R.C. Summerfelt, Springer, Netherlands 417-435.
- Mellas E.J., Haynes J.M. 1985 – Swimming performance and behavior of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and white perch (*Morone americana*): effects of attaching telemetry transmitters – *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 488-493.
- Miller E.A., Froehlich H.E., Cocherell D.E., Thomas M.J., Cech J.J.Jr., Klimley A.P., Fangue N.A. 2014 – Effects of acoustic tagging on juvenile green sturgeon incision healing, swimming performance, and growth – *Environ. Biol. Fish.* 97: 647-658.
- Neely B.C., Steffensen K.D., Pegg M.A. 2009 – A comparison of gastrically and surgically implanted telemetry transmitters in shovelnose sturgeon – *Fish. Manag. Ecol.* 16: 323-328.
- Nematollahi M.A., de Van Pelt H., Komen H. 2013 – Response to Stress in 17 alpha-hydroxylase Deficient Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) – *J. Agr. Sci. Tech.* 15: 303-310.
- Neves J.V., Caldas C., Ramos M.F., Rodrigues P.N.S. 2016 – Hepcidin-Dependent Regulation of Erythropoiesis during Anemia in a Teleost Fish, *Dicentrarchus labrax* – *PLoS One* 11: e0153940.
- Policar T., Samarin A.M., Mélard C. 2015 – Culture methods of Eurasian perch during ongrowing – In: *Biology and culture of percid fishes - principles and practices* (Eds) P. Kestemont, K. Dabrowski, R.C. Summerfelt, Springer, Netherlands: 417-435.
- Righton D., Metcalfe J., Connolly P. 2001 – Different behaviour of North and Irish Sea cod – *Nature* 482: 156.
- Rożyński M., Ziomek E., Demska-Zakęś K., Zakęś Z. 2016 – Propiscin – A safe anaesthetic for pikeperch (*Sander lucioperca* L.) – *Acta. Vet. Hung.* 64: 415-424.
- Sandstrom P.T., Ammann A.J., Michel C., Singer G., Chapman E.D., Lindley S., MacFarlane R.B., Klimley A.P. 2013 – Growth, survival, and tag retention of steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) and its application to survival estimates – *Environ. Biol. Fish.* 96: 145-164.
- Shaffi S.A. 1979 – Effects of starvation on tissue and serum gluconeogenic enzymes, alkaline phosphatase and tissue glycogen in the fresh water catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) – *Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung.* 53: 501-505.
- Smircich M.G., Kelly J.T. 2014 – Extending the 2% rule the effects of heavy internal tags on stress physiology, swimming performance, and growth in brook trout – *Anim. Biotelem.* 2: 16.
- Thorstad E.B., Økland F., Westerberg H., Aarestrup K., Metcalfe J.D. 2013 – Evaluation of surgical implantation of electronic tags in European eel and effects of different suture materials – *Mar. Freshwater Res.* 64: 324-331.
- Wagner G.N., Cooke S.J., Brown R.S., Deters K.A. 2011 – Surgical implantation techniques for electronic tags in fish – *Rev. Fish Biol. Fish.* 21: 71-81.
- Zakęś Z., Hopko M. 2013 – Tagging juvenile pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) in the cheek with Passive Integrated Transponders (PIT) - impact on rearing indexes and tag retention – *Arch. Pol. Fish.* 21: 243-248.