

KATARZYNA STAŃCZAK<sup>1, 3\*</sup>, ROBERT STABIŃSKI<sup>2</sup>, JAROSŁAW KRÓL<sup>3</sup>,  
PIOTR HLIWA<sup>3</sup>

**ZNAKOWANIE NARYBKU WĘGORZA EUROPEJSKIEGO  
(*ANGUILLA ANGUILLA* L.) Z ZASTOSOWANIEM PASZY KOMERCYJNEJ  
JAKO NOŚNIKA FLUOROCHROMÓW**

THE MARKING OF EUROPEAN EEL (*ANGUILLA ANGUILLA* L.) FRY USING  
A COMMERCIAL FEED AS A VECTOR OF FLUOROCHROMES

<sup>1</sup> Katedra Biologii i Hodowli Ryb, Wydział Nauk o Środowisku,  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. M. Oczapowskiego 5, 10- 719 Olsztyn

<sup>2</sup> Gospodarstwo Rybackie PZW w Suwałkach, ul. M. Konopnickiej 10, 16-400 Suwałki

<sup>3</sup> Katedra Ichtiologii, Wydział Nauk o Środowisku,  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. M. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

**ABSTRACT**

The series of experimental rearing conducted in Poland in the years 2014–2016 was aimed at optimizing conditions of European eel marking using a commercial feed supplemented with fluorochrome dye – Alizarin Red S (ARS). Analyses were carried out to establish the range of permissible concentrations of the fluorochrome in the feed, the effect of marking procedure on the growth and survival of the fish, as well as correlations between the size of individuals and effectiveness of their otoliths' marking. Results of the study allowed recommending the variant in which the fish were fed on Perla Eel Proactive (Skretting Ltd.) feed, supplemented with ARS in a dose of 40 g per kg of feed for 7 days, for implementation in fishery practice. The most effective procedure of marking European eel fry, caused no statistically significant differences in the mean total body length and/or total body weight (range size from 2 to 18 g) in all experimental trials. Also, the survival rate determined in all experimental groups was close to 100%. The presented feeding method is an effective, non-invasive and recommended for fish welfare technique of mass marking European eel fry with the use of ARS.

**Key words:** alizarin red S, commercial feed, eel, otoliths.

---

\* Autor do korespondencji: [katarzyna.stanczak@uwm.edu.pl](mailto:katarzyna.stanczak@uwm.edu.pl)

## 1. WSTĘP

Efektywność prowadzonych powszechnie akcji zarybieniowych powinna być weryfikowana, a jednym z obiektywnych narzędzi jej oceny jest metoda znakowań i zwrotów. Metoda ta, m.in. poprzez dokładne poznanie wieku pozyskanych ryb, tempa i dynamiki ich wzrostu, umożliwia wiarygodne zbadanie efektywności zarybień o charakterze gospodarczym (Cowx 1998), jak i stosowanych w eksperymentach reintrodukcyjnych związanych z zachowaniem populacji gatunków zagrożonych (Everhart i inni 1975).

Większość znanych i powszechnie stosowanych metod znakowania ryb (obcinanie płetw, tatuowanie, znaczki magnetyczne lub konwencjonalne etykiety) nie może być stosowana w przypadku stadiów młodocianych, ze względu na ich niewielkie rozmiary. Tymczasem w ramach masowych akcji zarybieniowych najczęściej wykorzystuje się larwy i narybek, dla których najmniej inwazyjną metodą znakowania jest barwienie ich struktur kostnych substancjami chemicznymi (barwnikami) o właściwościach fluorescencyjnych (Brothers 1990). Metody znakowania z zastosowaniem substancji chemicznych (w tym fluorochromów) możemy podzielić w zależności od sposobu ich wprowadzenia do organizmu ryb na: immersyjne, natryskowe, iniekcyjne, czy pokarmowe. Masowe znakowanie bez konieczności manipulowania poszczególnymi osobnikami, jako technikę bezpieczną i najlepszą z punktu widzenia dobrostanu ryb, można przeprowadzić immersyjnie albo drogą karmienia paszami suplementowanymi markerami. W znakowaniach za pomocą substancji fluoryzujących wykorzystywana jest zdolność tych związków do tworzenia kompleksów z jonami wapnia występujących naturalnie w strukturach szkieletowych ryb (kościach, łuskach, otolitach). Te trwałe, wbudowywane w elementy kostne związki mogą być wykrywane i obserwowane w świetle ultrafioletowym (Weber i Ridgway 1962, Stańczak i inni 2015).

Spośród markerów wykorzystywanych najczęściej w pracach doświadczalnych stosowano dotychczas: antybiotyki z grupy tetracyklin, związki alizaryny, kalceinę czy chlorek strontu. Natomiast pierwsze próby znakowania ryb metodą pokarmową, poprzez podawanie fluorochromów, prowadzono wyłącznie przy użyciu tetracykliny (Nagięć i inni 1983; Nagięć i Nagięć 1983). Metoda pokarmowa, która nie wymaga dodatkowych manipulacji w wylęgarni, ogranicza się do karmienia ryb paszami sztucznymi (komponowanymi) lub organizmami żywymi zawierającymi markery (Nagięć i inni 1983; Nagięć i Nagięć 1983; Thomas i inni 1995). Ryby przyuczone do pobierania danego rodzaju pokarmu (zooplankton, pasza sztuczna), bez trudu konsumują również pokarm wzbogacony markerami (znakowany). Dzieje się to przy porównywalnej intensywności żerowania i tempie wzrostu ryb oraz, co bardzo ważne, pozostaje bez istotnego wpływu zabiegu znakowania na ich śmiertelność (Nagięć i inni 1983).

Zrównoważone użytkowanie żywych zasobów wód wiąże się zazwyczaj z eksploatacją dostosowaną do aktualnego pogłowia ryb, a także z działaniami ukierunkowanymi na ochronę populacji gatunków zagrożonych i cennych z przyrodniczego oraz gospodarczego punktu widzenia, do jakich niewątpliwie zaliczamy węgorza. W Polsce od roku 2008 funkcjonuje Plan Gospodarowania Zasobami Węgorza, przygotowany zgodnie z rozporządzeniem Rady (WE) nr 1100/2007 (PGZWP 2008). W jego ramach zaplanowano m.in. zarybienia narybkiem szklistym lub podchowany o długości całkowitej ciała poniżej 20 cm oraz uwzględniono powstanie systemu monitorowania i oceny realizacji takich działań. Zarybienia węgorzem szklistym, ze względu na wysokie koszty zakupy materiału oraz stosunkowo niską przeżywalność takich stadiów, są działaniem przynoszącym zyski niewspółmiernie małe w stosunku do kosztów, i z punktu widzenia ekonomicznego w zasadzie nieopłacalnym. W związku z tym, coraz częściej jeziora i rzeki zarybia się starszym, cięższym i mającym większe szanse na przeżycie materiałem, jest nim tzw. węgorz obsadowy (podchowany). Konieczność weryfikacji skuteczności dokonywanych akcji zarybieniowych wymusza opracowanie stosunkowo prostych, ale jednocześnie wysoce efektywnych technik znakowań węgorza, które mogą być podstawą analizy ekonomicznej podejmowanych zabiegów gospodarczych. Niniejsza praca, której celem było zoptymalizowanie warunków znakowania narybku węgorza europejskiego, w zależności od jednostkowej masy ciała ryb, przy zastosowaniu Alizaryny Red S (ARS) jako suplementu paszy komercyjnej, jest elementem tego typu działań.

## 2. MATERIAŁY I METODY

Eksperymenty prowadzono w trzech kolejnych sezonach (lata 2014–2016), a materiał badawczy stanowił zróżnicowany wielkościowo narybek węgorza pochodzący z Podchowalni w Rucianem Nidzie, należącej do Gospodarstwa Rybackiego PZW w Suwałkach. Część eksperymentalna badań wykonywana była w laboratoriach Centrum Akwakultury i Inżynierii Ekologicznej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, dokąd ryby z Podchowani w Rucianem Nidzie transportowane były w workach z tlenem. W trakcie części eksperymentalnej węgorze umieszczono w oddzielnych akwariach o pojemności całkowitej około 30 dm<sup>3</sup>, zestawionych w obieg recyrkulacyjny z monitorowanymi fizyko-chemicznymi parametrami wody.

Materiał badawczy dzielono losowo na cztery grupy doświadczalne (w dwóch powtórzeniach) po 90 sztuk w każdej w 2014, po 60 sztuk w każdej w roku 2015, zaś w roku 2016 obsada każdego zbiornika wynosiła około 300 g biomasy. Po aklimatyzacji ryb, rozpoczynano ich karmienie, podając paszę eksperymentalną. Pokarm suplementowany podawano węgorzom ręcznie dwa razy dziennie w trakcie podchowów

prowadzonych w roku 2014 i 2015, zaś trzy razy dziennie w roku 2016, w dawce równej 4% biomasy obsady poszczególnych zbiorników przez 7 dni, z wyjątkiem eksperymentu z roku 2015 w etapie drugim, kiedy to pokarm suplementowany ARS podawano przez 10 kolejnych dni. Każdorazowo po zakończeniu podawania paszy suplementowanej przez kolejne 15 dni podawano rybom paszę czystą (niesuplementowaną ARS), zaś wyłącznie w roku 2015 w etapie drugim przez 20 dni.

Eksperymentalne podchowy prowadzono w wodzie o temperaturze wahającej się w granicach od 21,5 do 25,1°C, zawartości tlenu od 4,9 do 6,8 mg/dm<sup>3</sup> oraz pH wody oscylującym od 7,3 do 7,9, przy całkowitym zaciemnieniu zbiorników (fotoperiod 24D:0L). Każdego dnia akwaria dokładnie czyszczono z resztek paszy i liczono martwe osobniki. Każdorazowo po zakończeniu podchowów z każdej z grup doświadczalnych pobrano po 15 osobników, które poddano eutanazji w ponadnormatywnym stężeniu anestetyku, czyli 2-fenoksyetanolu (Sigma-Aldrich Ltd., Poznań), zmierzono długość całkowitą ciała z dokładnością do 1 mm, określono masę ciała z dokładnością do 0,01 g i zakonserwowano w 70% alkoholu etylowym. Następnie z każdego utrwalonego osobnika wypreparowano otolity, które zatapiano na podstawowych szkiełkach mikroskopowych w Entellanie (Sigma-Aldrich Ltd., Poznań). Tak przygotowane preparaty analizowano pod mikroskopem fluorescencyjnym NIKON Eclipse 90i, wyposażonym w lampę UV model Lumen 200 (Prior Scientific) w celu identyfikacji znaczków fluorescencyjnych na otolitach.

#### **Podchów i znakowanie węgorza szklatego przeprowadzone w roku 2014**

Materiał badawczy stanowił narybek szklisty (montée) o średniej masie ciała 0,34 (SD ± 0,091) g i średniej długości całkowitej 6,6 (SD ± 0,5) cm w czasie rozpoczynania badań. Ryby przez pierwsze dni eksperymentu karmione były mrożoną ikłą dorsza, a następnie stopniowo przyuczane do pobierania paszy ekstrudowanej. Po 20 dniach podchowu ryby swobodnie pobierały paszę ekstrudowaną Perla Eel Proactive 0,5 (firmy Skretting Ltd.). Wówczas rozpoczęto właściwy etap eksperymentu, czyli karmienie ryb paszą ekstrudowaną z domieszką ARS w czterech koncentracjach: 20, 40, 60, 0 g fluorochromu na 1 kg paszy (Tab. 1).

#### **Podchów i znakowanie narybku węgorza przeprowadzone w roku 2015**

W doświadczeniu wykorzystano narybek węgorza o średniej masie ciała 4,7 (SD ± 2,3) g i średniej długości całkowitej 14,1 (SD ± 2,3) cm w czasie rozpoczynania eksperymentu. Były to ryby swobodnie pobierające paszę ekstrudowaną Perla Eel Proactive 1.0 (firmy Skretting Ltd.). Etap pierwszy polegał na karmieniu narybku węgorza paszą ekstrudowaną z domieszką ARS w czterech koncentracjach: 20, 40, 60, 0 g fluorochromu na 1 kg paszy (Tab. 2). W etapie drugim rozpoczęto ponowne podawanie paszy

z domieszką ARS, ale tym razem w zwiększonych dawkach: 80, 100, 120, 0 g fluorochromu na 1 kg paszy (Tab. 2).

### **Znakowanie podchowanego narybku węgorza w roku 2016**

Materiał do znakowań stanowił narybek podchowany węgorza o średniej masie ciała 5,1 (zakres 0,7–17,1) g i średniej długości całkowitej ciała 15,2 (zakres 8,3–22,3) cm. Czynnikiem różnicującym poszczególne grupy była masa osobnicza węgorzy: ryby o masie ciała do 2 g (grupa ARS3-A); o masie ciała w zakresie od 2,1 do 6,8 g (grupa ARS3-B); ryby o masie ciała w granicach od 7,1 do 17,1 g (grupa ARS3-C); grupa kontrolna – ryby o masie ciała w zakresie od 0,7 do 14,8 g (Grupa K3) (Tab. 3). Ryby w trakcie podchowu karmiono paszą ekstrudowaną Perla Eel Proactive o granulacji 0,5 oraz 1 (firmy Skretting Ltd.) z domieszką ARS w koncentracji 40 g fluorochromu na 1 kg paszy.

Jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) wykorzystano do porównania średnich wartości całkowitej długości ciała i masy ciała ryb zmierzonych po zakończeniu podchowów i eksperymentów. Normalność rozkładu parametrów wzrostu przetestowano za pomocą testu Kołmogorowa-Smirnowa ( $P < 0,05$ ). Wszystkie analizy statystyczne opracowano z wykorzystaniem programu STATISTICA©(StatSoft Inc.) Polska, Kraków 2011.

## **3. WYNIKI**

### **Podchów i znakowanie węgorza szklatego przeprowadzone w roku 2014**

Po zakończeniu doświadczalnego podchowu w każdej z grup ryb, którym podawano paszę z domieszką ARS zidentyfikowano osobniki znakowane. W zależności od koncentracji fluorochromu w podawanej paszy było to od 47 do 77% badanych osobników w poszczególnych grupach (Tab. 1). Najwyższy odsetek znakowanych otolitów (77%) z widocznym znacznikiem odnotowano w grupie, w której węgorzom podawano paszę zawierającą 40 g ARS na 1 kg paszy (Fot. 1B). Natomiast istotnie niższy odsetek ryb znakowanych został potwierdzony w grupie, w której podawano paszę zawierającą połowę mniej barwnika, czyli jedynie 20 g ARS na 1 kg paszy (Fot. 1A). W wariancie, w którym węgorze otrzymywały najwyższą domieszkę fluorochromu do paszy uzyskano 47% znakowanych osobników (Fot. 1C). Natomiast w grupie kontrolnej nie odnotowano znakowanych otolitów (Fot. 1D). Karmienie narybku szklatego węgorzy paszą z domieszką ARS nie skutkowało ujawnieniem różnic międzygrupowych wyrażonych, po zakończeniu eksperymentu, średnią długością całkowitą czy średnią masą ciała węgorzy, a przeżywalność ryb we wszystkich grupach badawczych mieściła się w zakresie od 96 do 100% (Tab. 1).

**Tabela 1.** Wyniki eksperymentalnego podchowu węgorza szklistego z zastosowaniem karmienia paszą z domieszką ARS w roku 2014. Wartości w kolumnie oznaczone tym samym indeksem literowym (a) nie różnią się istotnie statystycznie ( $P < 0,05$ ).

**Table 1.** Results of the experimental rearing of glass eels that were fed on commercial feed supplemented with ARS in the year 2014. Values in a column that are marked with the same letter (a) do not differ significantly ( $P < 0.05$ ).

Grupa \ Group	Koncentracja ARS w paszy [g/kg] \ ARS concentration in feed [g/kg]	Srednia długość całkowita ciała ryb [cm] (± SD) \ Zakres długości całkowitej ciała ryb [cm] \ Mean total body length of fish [cm] (±SD) \ Range of total body length of fish [cm]	Srednia masa ciała ryb [g] (± SD) \ Zakres masy ciała ryb [g] \ Mean body weight of fish [g] (± SD) \ Range of body weight of fish [g]	Znakowane otolithy [%] \ Marked otoliths [%]	Przeżywalność [%] \ Survival [%]
ARS1/20	20	8,1 <sup>a</sup> ± 1,2 6,2 – 10,4	0,89 <sup>a</sup> ± 0,54 0,25 – 1,84	60	97
ARS1/40	40	7,8 <sup>a</sup> ± 1,2 5,2 – 9,7	0,78 <sup>a</sup> ± 0,46 0,11 – 1,67	77	100
ARS1/60	60	7,8 <sup>a</sup> ± 1,1 6,3 – 9,6	0,85 <sup>a</sup> ± 0,45 0,22 – 1,60	47	97
K1	0	7,3 <sup>a</sup> ± 0,9 6,1 – 9,4	0,57 <sup>a</sup> ± 0,37 0,18 – 1,43	0	96

SD – odchylenie standardowe (standard deviation).

**Tabela 2.** Wyniki eksperymentalnego podchowu węgorza szklistego z zastosowaniem karmienia paszą z domieszką ARS w roku 2015. Wartości w kolumnie oznaczone tym samym indeksem literowym (a) nie różnią się istotnie statystycznie ( $P < 0,05$ ).

**Table 2.** Results of the experimental rearing of glass eels that were fed on commercial feed supplemented with ARS in the year 2015. Values in a column that are marked with the same letter (a) do not differ significantly ( $P < 0.05$ ).

Grupa \ Group	Koncentracja ARS w paszy [g/kg] \ ARS concentration in feed [g/kg]		Średnia długość całkowita ciała ryb [cm] ( $\pm$ SD) \ Średnia masa ciała ryb [g] ( $\pm$ SD)		Otolity z jednym znaczkami [%] \ Otoliths with one mark [%]		Otolity z dwoma znaczkami [%] \ Otoliths with two marks [%]		Przeżywalność [%] \ Survival [%]
	Pierwszy etap \ Stage one	Drugi etap \ Stage two	całkowitej ciała ryb [cm] \ Mean total body length of fish [cm]	Zakres długości całkowitej ciała ryb [cm] \ Range of total body length of fish [cm]	Zakres masy ciała ryb [g] \ Mean body weight of fish [g]	Zakres masy ciała ryb [g] \ Range of body weight of fish [g]	Otolity z jednym znaczkami [%] \ Otoliths with one mark [%]	Otolity z dwoma znaczkami [%] \ Otoliths with two marks [%]	
ARS2/20/80	20	80	14,5 <sup>a</sup> $\pm$ 2,2	9,1 – 19,4	5,2 <sup>a</sup> $\pm$ 2,2	0,89 – 10,37	54	37	98
	40	100	14,6 <sup>a</sup> $\pm$ 1,9	10,7 – 18,6	5,3 <sup>a</sup> $\pm$ 1,9	1,74 – 9,02	64	17	100
ARS2/60/120	60	120	15,2 <sup>a</sup> $\pm$ 2,4	11,4 – 19,3	5,9 <sup>a</sup> $\pm$ 3,3	1,91 – 14,93	40	13,3	100
	0	0	15,4 <sup>a</sup> $\pm$ 1,9	11,3 – 18,1	6,4 <sup>a</sup> $\pm$ 2,0	2,55 – 8,98	0	0	100

SD – odchylenie standardowe (standard deviation).

**Tabela 3.** Wyniki eksperymentalnego podchowu i znakowania narybku wegorza wykonanego w roku 2016. W pierwszych trzech grupach zastosowano paszę suplementowaną ARS (40 g/kg). W czwartej grupie (K3) zastosowano paszę niesuplementowaną. Wartości w kolumnie oznaczone tym samym indeksem literowym (a) nie różnią się istotnie statystycznie ( $P < 0,05$ ).

**Table 3.** Results of the experimental rearing and marking of eel fry performed in the year 2016. In the first three groups, a feed supplemented with ARS (40 g/kg) was applied. In the fourth group (K3), a feed not supplemented with ARS was applied. Values in a column that are marked with the same letter (a) do not differ significantly ( $P < 0.05$ ).

Grupa \ Group	Średnia długość całkowita ciała ryb [cm] (±SD) Zakres długości całkowitej ciała ryb [cm] \	Średnia masa ciała ryb [g] (±SD) Zakres masy ciała ryb [g] \	Znakowane otoliths [%] \	Przeżywalność [%] \
	Mean total body length of fish [cm] (±SD) Range of total body length of fish [cm]	Mean body weight of fish [g] (±SD) Range of body weight of fish [g]	Marked otoliths [%]	Survival [%]
ARS3-A	9,0 <sup>a</sup> ± 1,0 8,4 – 11,3	1,3 <sup>a</sup> ± 0,5 0,9 – 2,33	100	100
ARS3-B	13,7 <sup>a</sup> ± 1,7 10,7 – 17,1	4,1 <sup>a</sup> ± 1,4 2,1 – 6,8	100	96,7
ARS3-C	18,7 <sup>a</sup> ± 1,8 16,1 – 22,3	10,3 <sup>a</sup> ± 2,9 7,1 – 17,1	100	100
K3	12,4 <sup>a</sup> ± 4,2 8,3 – 20,4	4,1 <sup>a</sup> ± 4,2 0,7 – 14,8	0	94

SD – odchylenie standardowe (standard deviation).



**Podchów i znakowanie węgorza przeprowadzone w roku 2015**

W każdej z analizowanych grup węgorzy, którym podawano paszę z domieszką ARS zidentyfikowano osobniki znakowane. W zależności od koncentracji barwnika w podawanej paszy było to od 40 do 64% badanych ryb w poszczególnych grupach (Tab. 2). Najwyższy odsetek znakowanych otolitów z jednym wyraźnym znaczkami zdiagnozowano w grupie, której podawano w pierwszej części podchowu paszę zawierającą 40 g, natomiast w drugim etapie 100 g ARS na 1 kg paszy (Fot. 2B). Najwyższy odsetek ryb z dwoma wyraźnymi znaczkami na otolitach odnotowano zaś w grupie karmionej paszą, w której koncentracja fluorochromu wynosiła najpierw 20 g/kg, a następnie 80 g/kg ARS (Fot. 2A). W wariacie, w którym węgorze karmiono paszą z najwyższą domieszką fluorochromu uzyskano jedynie 40% znakowanych osobników (Fot. 2C). W grupie kontrolnej, która przez cały okres podchowu eksperymentalnego otrzymywała paszę bez dodatku markera, nie odnotowano osobników znakowanych (Fot. 2D). Karmienie ryb paszą z domieszką ARS nie generowało istotnych statystycznie różnic międzygrupowych wyrażonych średnią długością całkowitą oraz średnią masą ciała węgorzy. Przeżywalność ryb w poszczególnych grupach zanotowana w trakcie całego doświadczenia mieściła się w bardzo wysokim zakresie, od 98 do 100% (Tab. 2).

W trakcie podchowu zaobserwowano, iż osobniki o przeciętnej większej masie i długości ciała pobierały paszę znacznie chętniej i efektywniej, co miało swoje odzwierciedlenie w skuteczności znakowania poszczególnych osobników. Dodatkowo potwierdzono możliwość uzyskiwania kilku znaczków (wielokrotnego znakowania) u narybku węgorza wykorzystując zastosowaną metodę pokarmową i potencjalnego opracowania w przyszłości tzw. systemu kodowań barwnych.

**Znakowanie podchowanego narybku węgorza w roku 2016**

W eksperymencie przeprowadzonym w roku 2016 barwiony ARS pokarm podawano rybom posortowanym na trzy grupy wedle ich masy ciała. W każdej z analizowanych grup, którym podawano paszę zawierającą taką samą ilość ARS, tj. 40 g na 1 kg paszy, zidentyfikowano 100% znakowanych otolitów (Fot. 3A, B, C, Tab. 3). Natomiast w grupie kontrolnej, żywionej paszą bez dodatku fluorochromu, nie odnotowano osobników znakowanych (Fot. 3D, Tab. 3). Analogicznie do dwóch wcześniejszych eksperymentalnych znakowań, karmienie ryb paszą z domieszką ARS nie generowało istotnych statystycznie różnic międzygrupowych, a przeżywalność ryb we wszystkich grupach badawczych mieściła się w wąskim zakresie, od 94 do 100% (Tab. 3).

#### 4. Dyskusja

Dobór odpowiedniej metody aplikacji fluorochromu oraz jego koncentracji w trakcie procedury znakowania jest uzależniony od gatunku oraz stadium rozwojowego ryb. Optymalna metoda znakowania powinna zapewniać 100% skuteczność zabiegu, co w przypadku technik z zastosowaniem barwników fluorochromowych jest tożsamy z wysoką jakością uzyskanych „znaczków”. Jednocześnie winna ona w minimalnym stopniu wpływać na śmiertelność oraz tempo wzrostu ryb, być tania i stosunkowo łatwa do przeprowadzenia w warunkach wylęgarniczych, a jej rezultaty proste do zidentyfikowania (Brown i Harris 1995).

Już w latach 60. ubiegłego wieku raportowano efektywne zabiegi znakowania łososia pacyficznego (*Oncorhynchus* sp.) markerami fluorescencyjnymi zadawanymi drogą pokarmową (Weber i Ridgway 1962). W przypadku węgorza dotychczas podejmowane były kilkakrotnie takie próby. Alcobendas i inni (1991) testowali znakowanie węgorza (wstępującego) z zastosowaniem szoku hiperosmotycznego przy zastosowaniu 5% NaCl, poprzedzającego 3,5 minutową kąpiel ryb w 1% roztworze chlortetracykliny lub 2% roztworze fluoresceiny. Metoda ta została wykorzystana na masową skalę do znakowania 500 kg węgorzy, a jej wyniki okazały się bardzo dobre, bowiem uzyskano 100% skuteczność zabiegu. Jednocześnie oceniono, że 70% znakowanego materiału cechowało się bardzo wyraźnymi pierścieniami (znaczkami) na otolitach. Technika łączenia znakowania immersyjnego z szokiem osmotycznym pozwalała na istotne skrócenie czasu kontaktu ryby z fluorochromem, a zatem była teoretycznie bezpieczniejsza i znacznie podnosiła efektywność zabiegu. Z najnowszych badań dotyczących znakowania węgorza z wykorzystaniem ARS należy przywołać prace Caraguel i inni (2015), którzy podjęli próbę znakowania ryb w bardzo dużym zagęszczeniu, bez użycia szoku osmotycznego. Poznakowano wówczas 360 tys. sztuk węgorzy szklitych, a efekt znakowania weryfikowano po 15 dniach oraz siedmiu miesiącach od zabiegu. W obu przypadkach jakość znaczków ocenianych na otolitach okazała się bardzo dobra. Z kolei amerykańskiego węgorza *Anguilla rostrata* (Lesueur, 1817) znakowano poprzez iniekcję markera. Próbę znakowania podjęto na osobnikach o długości około 30 cm, które iniekowano dawką 75 mg tetracykliny na kg masy ciała ryb, uzyskując tym sposobem 100% skuteczność zabiegu (Oliveira 1996).

Wprowadzanie markera do ciała ryb wraz z pokarmem wiąże się z pewnymi ograniczeniami i trudnościami. Fluorochrom może bowiem stosunkowo szybko uwolnić się do wody z niepobranej paszy, ze względu na łatwość jego rozpuszczania. Ponadto marker może nie być szybko wchłaniany w obrębie przewodu pokarmowego ryb. A takie problemy wpływając bezpośrednio na efektywność zabiegu znakowania, wymuszają jednocześnie starania o wyznaczenie niezbędnego – minimalnego stężenia

markera, które zapewni wysoką skuteczność procedury, przy możliwie niskich jej kosztach (Hendricks i inni 1991, Thomas i inni 1995). Jednocześnie nasze wyniki potwierdziły dotychczasowe doświadczenia (m.in. Simon i inni (2009)), że znakowania młodocianych stadiów węgorza z zastosowaniem barwników fluorochromowych nie wywołują zahamowania tempa ich wzrostu oraz nie skutkują wyższą śmiertelnością w grupach.

W doświadczeniu przeprowadzonym przez Brothers (1990) wykazano, iż możliwe jest uzyskanie na otolitach palii jeziorowej *Salvelinus namaycush* unikalnych wzorów. Pozwalało to na rozpoznawanie wpuszczanych do rzek smoltów tego gatunku, mających na swoich otolitach wzory charakterystyczne dla danej wylęgarni. Zastosowana przez nas metoda wielokrotnego znakowania stwarza potencjalną możliwość budowania kodów paskowych, analogicznych do tych, które są wykorzystywane w handlu.

Podsumowując należy stwierdzić, iż możliwe jest efektywne znakowanie narybku węgorza europejskiego o jednostkowej masie ciała w zakresie od 0,8 do 17 g metodą pokarmową, przy wykorzystaniu barwnika fluorochromowego w postaci Alizaryny Red S. Karmienie ryb paszą suplementowaną ARS w dawce 40 g na 1 kg paszy przez 7 dni okazało się optymalnym wariantem do znakowań narybku węgorza, a prezentowana metoda może być rekomendowana do zastosowania w praktyce rybackiej.

#### **PODZIĘKOWANIA**

Autorzy dziękują Zarządowi Głównemu PZW za kompleksowe wsparcie w realizacji niniejszych badań. Badania sfinansowano z funduszy Polskiego Związku Wędkarskiego oraz tematu statutowego UW-M w Olsztynie.

#### **5. SUMMARY**

The Polish Eel Management Plan (PEMP), implemented on the basis of Council Directive (EC) no 1100/2007, has been binding in Poland since 2008. The PEMP provides, among others, increasing restocking with glass and/or fry of eel longer than 20 cm in total length and development of a monitoring and verification system for assessment of these actions. The necessity of verifying effectiveness of restocking programs enforces the development of relatively simple but highly effective techniques of eel marking that could be used in the economic analysis of these plans. This study, which was aimed at optimizing conditions of European eel fry with the feeding method based on administration of a commercial feed supplemented with a fluorochrome – Alizarin Red S (ARS) – to fish, inscribes into the scope of works addressed in the MEMP. Respective experiments were conducted in three consecutive seasons (2014–2016), and involved the feeding of glass or/and fry of the European eel on an

extruded feed, Perla Eel Proactive, supplemented with ARS in the concentration ranging from 20 to 120 g fluorochrome per kg of the feed (Tab. 1–3). The supplementation of ARS to the feed resulted in no statistically significant differences in mean total body length and mean total body weight of eels in any of the experimental rearing groups (Photo 1–3), whereas the survival rate determined in all the experiments was close to 100% (Tab. 1–3). The variant in which the fish received the commercial feed supplemented with ARS in a dose of 40 g per kg of the feed for 7 days, turned out to be an effective technique of European eel fry mass marking and may be recommended for implementation in fishery practice.

## 6. LITERATURA

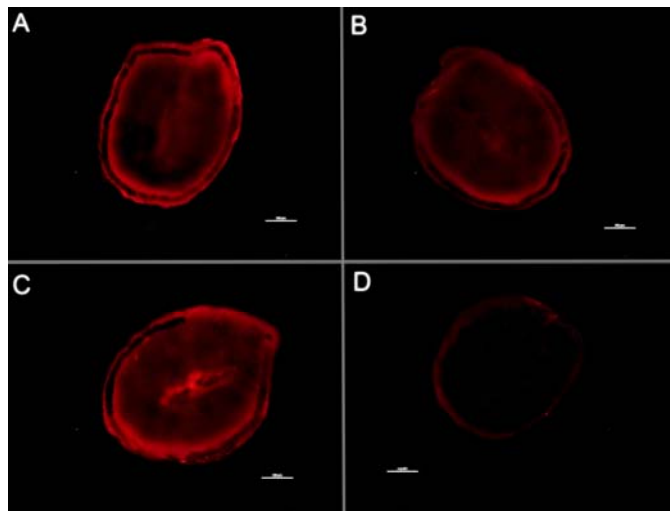
- Alcobendas M., Lecomte F., Costanet J., Meunier F.J., Maire P., Holl M. 1991. Technique de marquage en masse de civelles (*Anguilla anguilla* L.) par baignade rapide dans le fluorochrome. Bull. Fr. Peche Piscic., 321, 43–54.
- Brothers E.B. 1990. Otolith marking. American Fisheries Society Symposium, 7, 183–202.
- Brown P., Harris J.H. 1995. Strontium batch-marking in golden perch (*Macquaria ambigua*, Richardson) and trout cod (*Maccullochella macquariensis*, Cuvier). ss. 303–318 (W: Recent developments in fish otolith research. Red. D.H. Secor, J.M. Dean, S.E. Campana). University of South Carolina Press, Columbia.
- Caraguel J.M., Charrier F., Mazel V., Feunteun E. 2015. Mass marking of stocked European glass eels (*Anguilla Anguilla*) with alizarin red S. Ecol. of Freshw. Fish., 24, 435–442.
- Cowx I.G. 1998. Stocking strategies: issues and options for future enhancement programmes? ss. 3–13 (W: Stocking and Introduction of Fish. Red. I.G. Cowx). Fishing News Books. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Everhart W.H., Eipper A.E., Youngs W.D. 1975. Fish marking. ss. 141–216 (W: Principles of Fishery Science. Red. W.H. Everhart, W.D. Youngs). Cornell University Press, New York.
- Hendricks M.L., Bender T.R., Mudrak V.A. 1991. Multiple marking of American shad otoliths with tetracycline antibiotics. N. Am. J. Fish. Manag., 11, 212–219.
- Nagięć M., Nagięć C. 1983. Marking of juvenile whitefish (*Coregonus lavaretus* L) by tetracycline antibiotics. Rocz. Nauk Rol., H-100(3), 107–114.
- Nagięć M., Nagięć C., Dąbrowski K., Morawska E. 1983. Marking of juvenile whitefish *Coregonus lavaretus* L. with tetracycline antibiotics. Acta Ichtiol. Piscat., XIII (2), 47–56.
- Oliveira K. 1996. Field validation of annular growth rings in the American eel, *Anguilla rostrata* (Lesueur, 1817), using tetracycline-marked otoliths. Fishery Bulletin, 94, 186–189.
- PGZWP. 2008. Plan Gospodarowania Zasobami Węgorza w Polsce. MRiRW. MiR. IRŚ, Warszawa, ss. 44.

- Simon J., Dörner H., Richter C. 2009. Growth and mortality of European glass eel *Anguilla anguilla* marked with oxytetracycline and alizarin red. J. Fish Biol., 79, 289–295.
- Stańczak K., Krejszef S., Dębowska M., Mierzejewska K., Woźniak M., Hliwa P. 2015. Mass marking of *Leuciscus idus* larvae using *Artemia salina* as a vector of fluorescent dyes. J. Fish Biol., 87, 799–804.
- Thomas L.M., Holt S.A., Arnold C.R. 1995. Chemical marking techniques for larval and juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) otoliths using different fluorescent markers. ss. 703–717 (W: Recent developments in fish otolith research. Red. D.H. Secor, J.M. Dean, S.E. Campana). University of South Carolina Press, Columbia.
- Weber D.D., Ridgway G.J. 1962. The deposition of tetracycline drugs in bones and scales of fish and its possible use for marking. Progressive Fish-Culturist, 4(24), 150–155.

**Deklaracja autorów o udziale w przygotowaniu publikacji:**

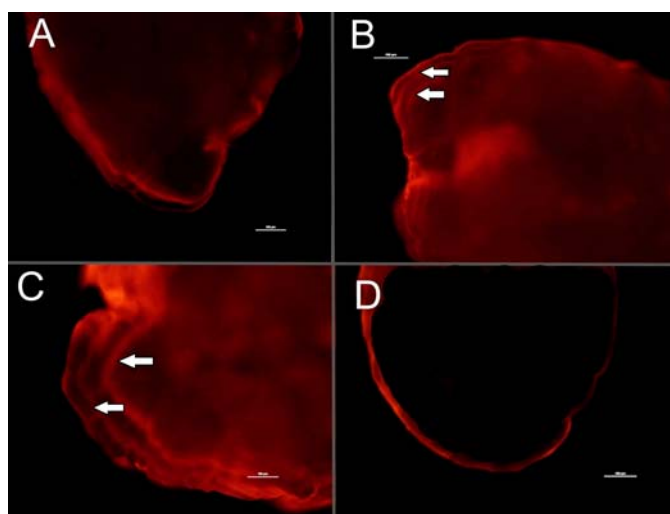
Wszyscy współautorzy niniejszej publikacji przyczynili się, choć w różnym stopniu, do: A – przygotowania projektu badań i programu pracy, B – zbierania danych i prowadzenia badań; C – przeprowadzenia analizy statystycznej; D – interpretacji wyników; E – opracowania manuskryptu; F – wyszukiwania literatury. Sumaryczny udział poszczególnych współautorów wynosił: KS – 40%, RS – 5%, JK – 20%, PH – 35%. Pomiędzy żadnymi współautorami nie istnieje konflikt interesów. Praca nie posiada autorów nieujawnionych.





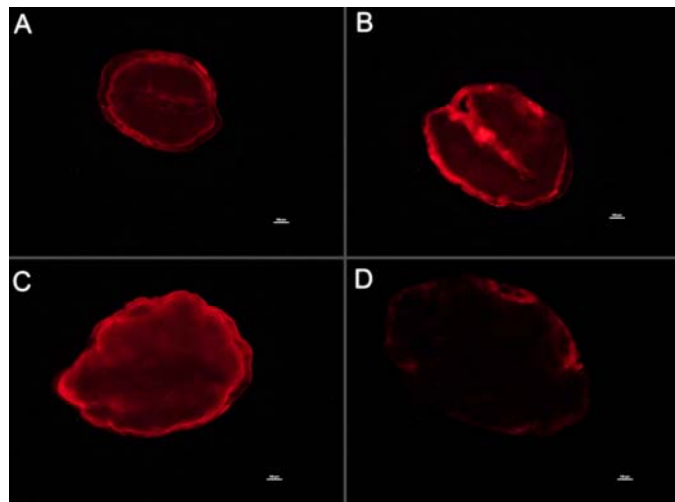
**Fig. 1.** Otolithy węgorza szklistego w świetle UV po zakończonym eksperymentalnym podchowcie w roku 2014: A – grupa ARS1/20; B – grupa ARS1/40; C – grupa ARS1/60; D – grupa K1 (kontrolna). Bar = 100  $\mu$ m.

**Photo 1.** Otoliths of glass eels in UV light after experimental rearing in the year 2014: A – ARS1/20 group; B – ARS1/40 group; C – ARS1/60 group, D – K1 (control group). Bar = 100  $\mu$ m.



**Fot. 2.** Otolithy narybku węgorza w świetle UV po zakończonym eksperymentalnym podchowcie w roku 2015: A – grupa ARS2/20/80; B – grupa ARS2/40/100; C – grupa ARS2/60/120; D – grupa K2 (kontrolna). Bar = 100  $\mu$ m. Białymi strzałkami zaznaczono uzyskane znaczki.

**Photo 2.** Otoliths of eel fry in UV light after experimental rearing in the year 2015: A – ARS2/20/80 group; B – ARS2/40/100 group; C – ARS2/60/120 group; D – K2 (control group). Bar = 100  $\mu$ m. White arrows indicate received marks.



**Fot. 3.** Otolity narybku węgorza w świetle UV, po zakończeniu eksperymentalnego podchowu w roku 2016: A – grupa ARS3-A; B – grupa ARS3-B; C – grupa ARS3-C; D – grupa K3 (kontrolna). Bar = 100  $\mu\text{m}$ .

**Photo 3.** Otoliths of eel fry in UV light after experimental rearing in the year 2016: A – ARS3-A group; B – ARS3-B group; C – ARS3-C group; D – K3 (control group). Bar = 100  $\mu\text{m}$ .