



Unia Europejska
Europejski Fundusz
Morski i Rybacki



Produkcja wylęgu reofilnych ryb karpiowatych w oparciu o biotechnikę kontrolowanego rozrodu

Sławomir Krejszeff¹, Beata I. Cejko²

¹Zakład Akwakultury, Instytut Rybactwa Śródlądowego im. St. Sakowicza w Olsztynie

²Zakład Biologii Gamet i Zarodka, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

Wstęp

Reofilne ryby karpowate jako grupa ekologiczna

- Strzebla potokowa (*Phoxinus phoxinus*),
- Piekielnica (*Alburnoides bipunctatus*),
- Brzanka (*Barbus meridionalis*),
- Brzanka karpacka (*B. carpathicus*),
- Jelec (*Leuciscus leuciscus*),
- Kiełb (*Gobio gobio*),
- Kiełb Kesslera (*Romanogobio kesslerii*),
- Kiełb białołetwy (*Romanogobio albipinnatus*)
- Ciosa (*Pelecus cultratus*)
- Kleń (*Squalius cephalus*),
- Boleń (*Leuciscus aspius*),
- Świnka (*Chondrostoma nasus*),
- Brzana (*Barbus barbus*),
- Certa (*Vimba vimba*),
- Jazia (*Leuciscus idus*).

Źródło:

- Śliwiński i in. 2016

Wstęp

Reofilne ryby karpowate jako grupa ekologiczna

- Strzebla potokowa (*Phoxinus phoxinus*),
- Piekielnica (*Alburnoides bipunctatus*),
- Brzanka (*Barbus meridionalis*),
- Brzanka karpacka (*Barbus waleckii* i *B. carpathicus*
– niejasny status systematyczny gatunku/gatunków),
- Jelec (*Leuciscus leuciscus*),
- Kiełb (*Gobio gobio*),
- Kiełb Kesslera (*Romanogobio kesslerii*),
- Kiełb białopłetwy (*Romanogobio albiginnatus*)
- Ciosa (*Pelecus cultratus*)
- Kleń (*Squalius cephalus*),
- Boleń (*Leuciscus aspius*),
- Świnka (*Chondrostoma nasus*),
- Brzana (*Barbus barbus*),
- Certa (*Vimba vimba*),
- Jazia (*Leuciscus idus*).

Źródło:

- Śliwiński i in. 2016

Wstęp

Reofilne ryby karpowate jako grupa ekologiczna

- Strzebla potokowa (*Phoxinus phoxinus*),
- Piekielnica (*Alburnoides bipunctatus*),
- Brzanka (*Barbus meridionalis*),
- Brzanka karpacka (*Barbus waleckii* i *B. carpathicus*
– niejasny status systematyczny gatunku/gatunków),
- Jelec (*Leuciscus leuciscus*),
- Kiełb (*Gobio gobio*),
- Kiełb Kesslera (*Romanogobio kesslerii*),
- Kiełb białopłetwy (*Romanogobio albiginnatus*)
- Ciosa (*Pelecus cultratus*)
- Kleń (*Squalius cephalus*),
- Boleń (*Leuciscus aspius*),
- Świnka (*Chondrostoma nasus*),
- Brzana (*Barbus barbus*),
- Certa (*Vimba vimba*),
- Jazia (*Leuciscus idus*),
- **Jelec (*Leuciscus leuciscus*)**.

Źródło:

- Śliwiński i in. 2016

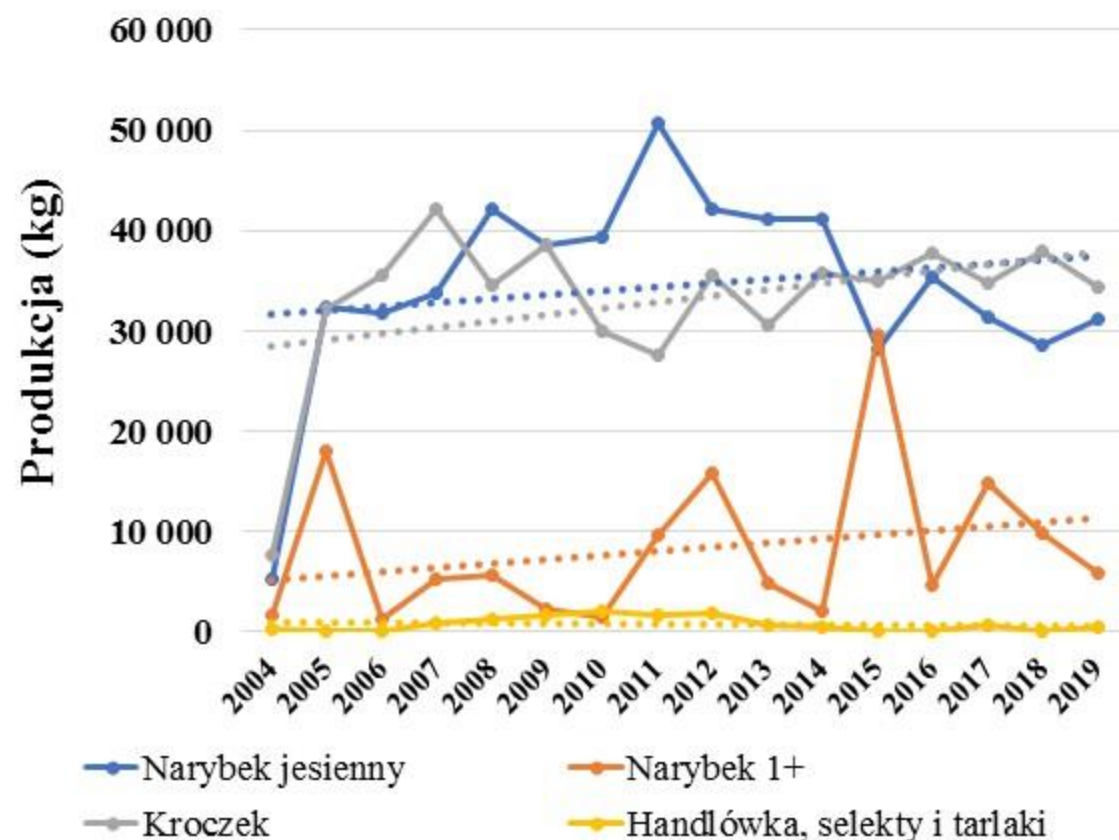
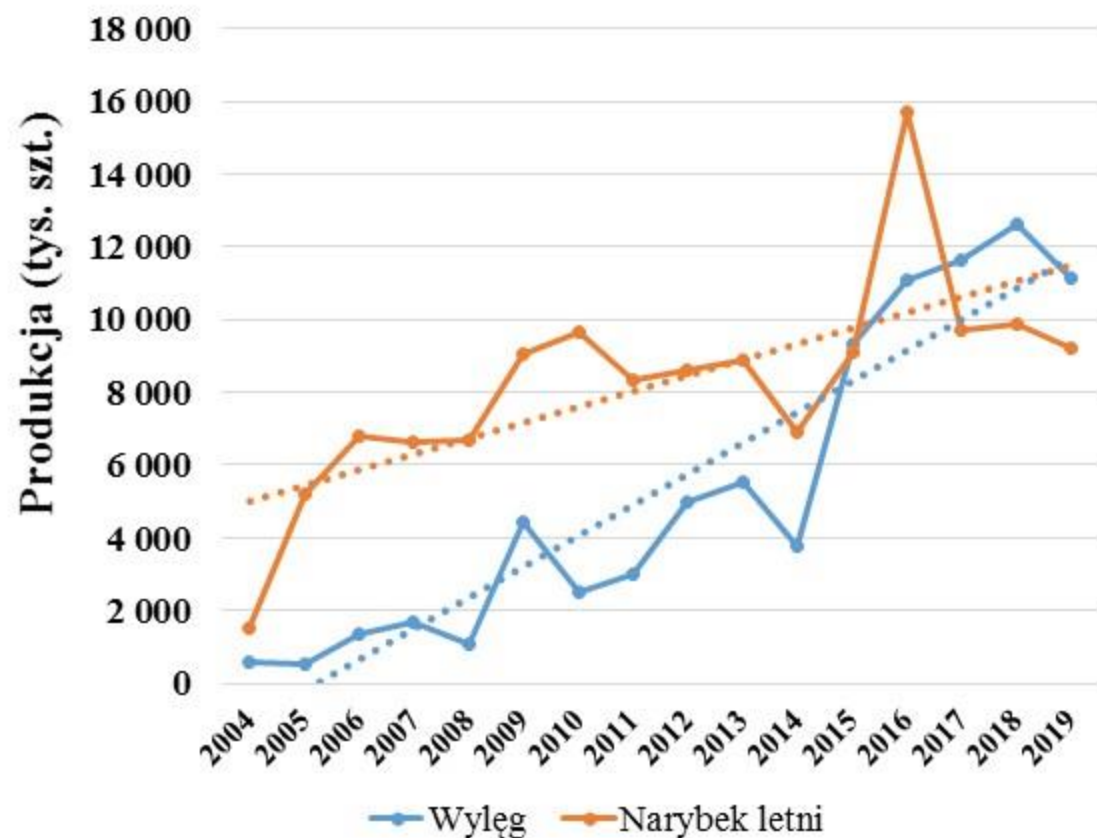
Wstęp

Tab. 1. Cennik materiału zarybieniowego dla obszaru działania RZGW w Białymstoku - 2018 r. ważny od 19.04.2018 r.

Lp.	gatunek	sortyment	jedn. miary	średnie ceny brutto
2	Boleń	wylęg żerujący	1 000 szt.	12,00
		narybek letni	szt.	0,20
		narybek jesienny	szt.	0,60
		narybek wiosenny (po przezimowaniu)	szt.	0,65
		tarlak	kg	6,00
3	Brzana	wylęg żerujący	1 000 szt.	65,00
		narybek letni	szt.	0,50
		narybek jesienny	szt.	0,90
		narybek wiosenny (po przezimowaniu)	szt.	1,10
		dwulatek	szt.	1,50
		tarlak	kg	8,00
4	Certa	wylęg żerujący	1 000 szt.	50,00
		narybek letni	szt.	0,34
		narybek jesienny	szt.	0,65
		narybek wiosenny (po przezimowaniu)	szt.	0,75
		dwulatek	szt.	1,00

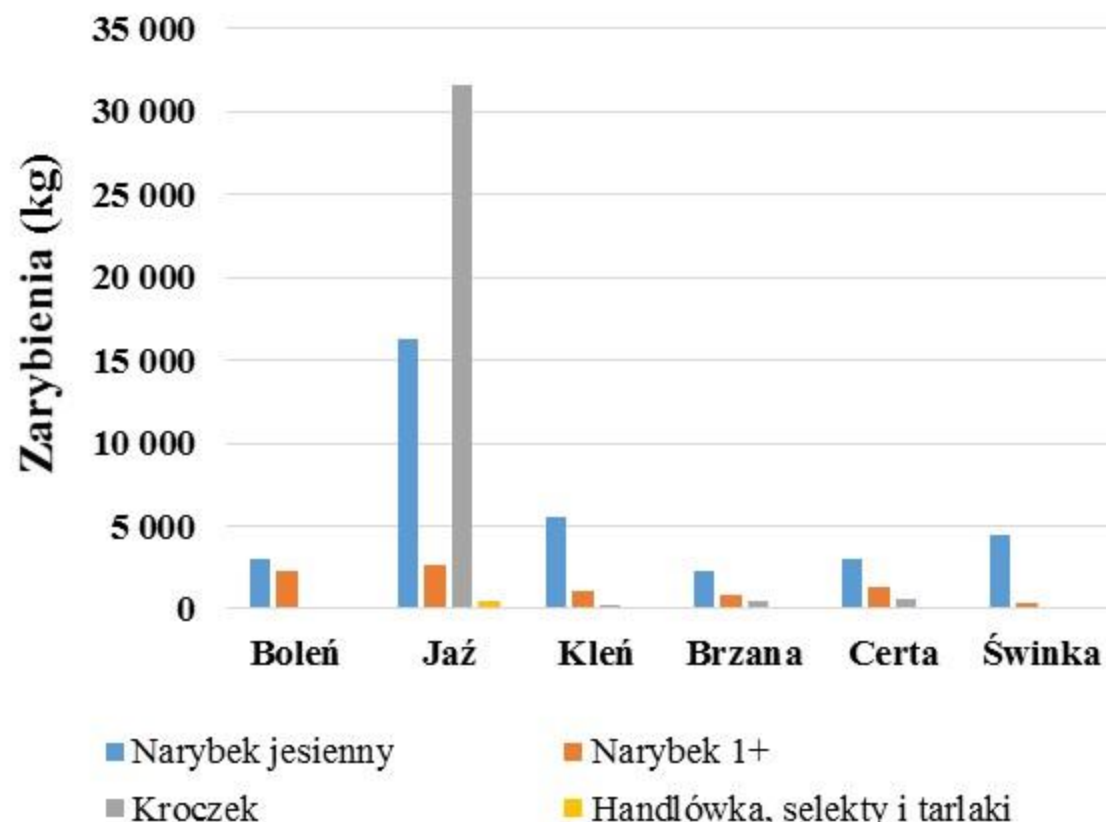
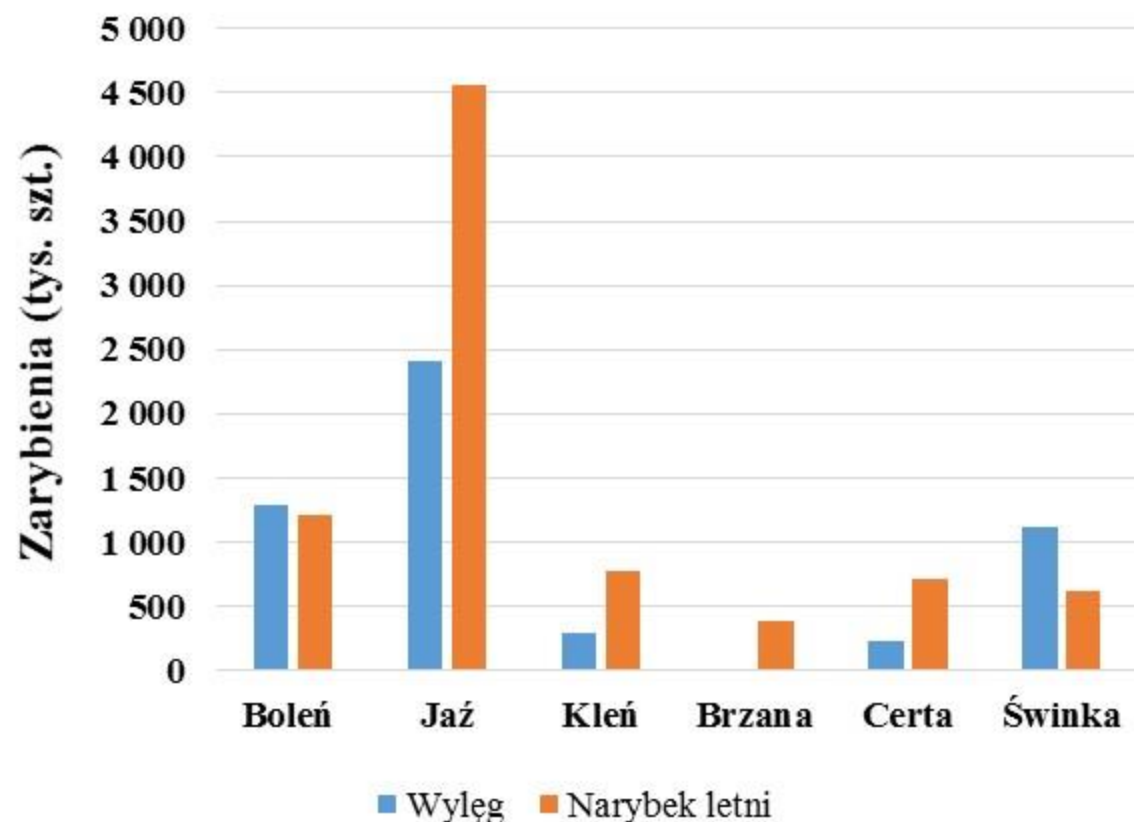
5	Jaź	wylęg żerujący	1 000 szt.	9,00
		narybek letni	szt.	0,07
		narybek jesienny	kg	12,00
		narybek wiosenny (po przezimowaniu)	kg	13,00
		kroczek	kg	11,00
		tarlak	kg	10,00
6	Jelec	narybek letni	szt.	0,50
		narybek jesienny	szt.	1,00
10	Kleń	wylęg żerujący	1 000 szt.	12,00
		narybek letni	szt.	0,16
		narybek jesienny	szt.	0,40
		narybek wiosenny (po przezimowaniu)	szt.	0,50
25	Świnka	wylęg żerujący	1 000 szt.	40,00
		narybek letni	szt.	0,20
		narybek jesienny	szt.	0,35
		narybek wiosenny (po przezimowaniu)	szt.	0,50

Wstęp



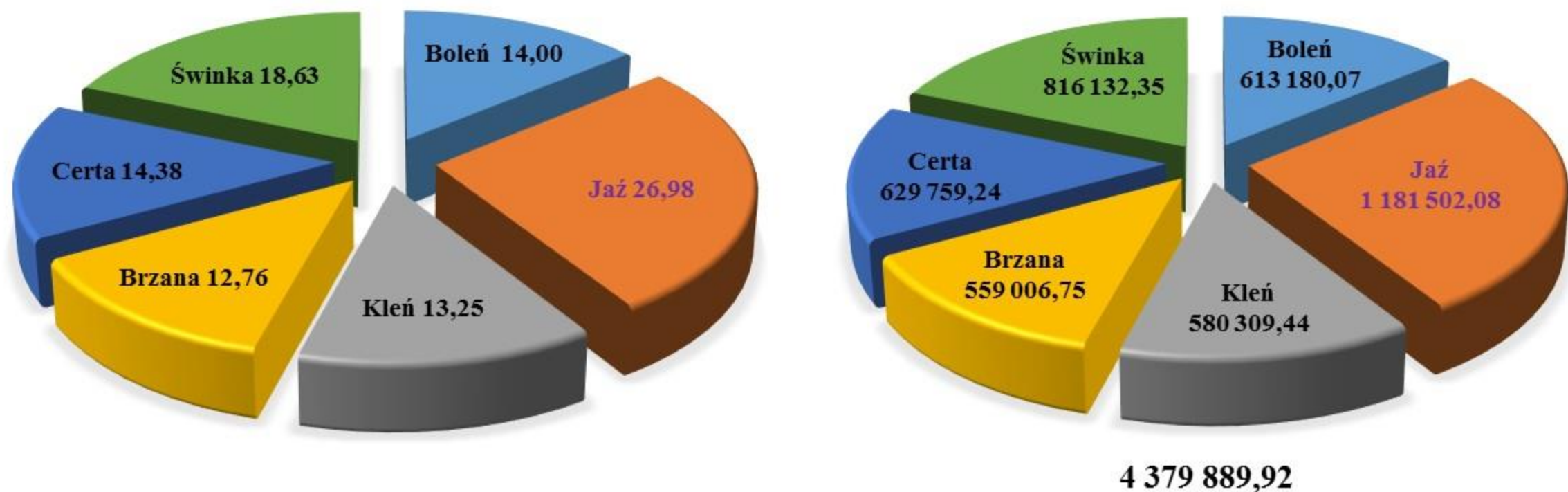
Rys. 1, 2. Ilość materiału zarybieniowego poszczególnych gatunków reofilnych ryb karpowatych w podziale na sortymenty wprowadzonego do publicznych śródlądowych wód powierzchniowych płynących w latach 2004 – 2019 (Mickiewicz i in. 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, Mickiewicz i Wołos 2019, 2020, 2021).

Wstęp



Rys. 1, 2. Ilość wylęgu i narybku letniego narybku jesiennego, narybku 1+, krocza oraz handlówki, selektów i tarlaków poszczególnych gatunków reofilnych ryb karpowatych wprowadzonego do publicznych śródlądowych wód powierzchniowych płynących w latach 2004 – 2019 (Mickiewicz i in. 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, Mickiewicz i Wołos 2019, 2020, 2021).

Wstęp



Rys. 5, 6. Procentowy i kwotowy udział średniej wartości materiału zarybieniowego poszczególnych gatunków reofilnych ryb karpowatych w latach 2004 – 2017 (Mickiewicz i in. 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, Mickiewicz i Wołos 2019, 2020, 2021).

Termin pozyskiwania tarlaków



<https://wedkuje.pl/ryby/bolen/5238>



<http://nextews.com/eebc17fa/>



<https://www.wykop.pl/wpis/19641669/rybypolskic-hwod-swinka-chondrostoma-nasus-okres-oc/>



https://wdk.cmc-gallery.pl/foto_kontent/klen11.jpg

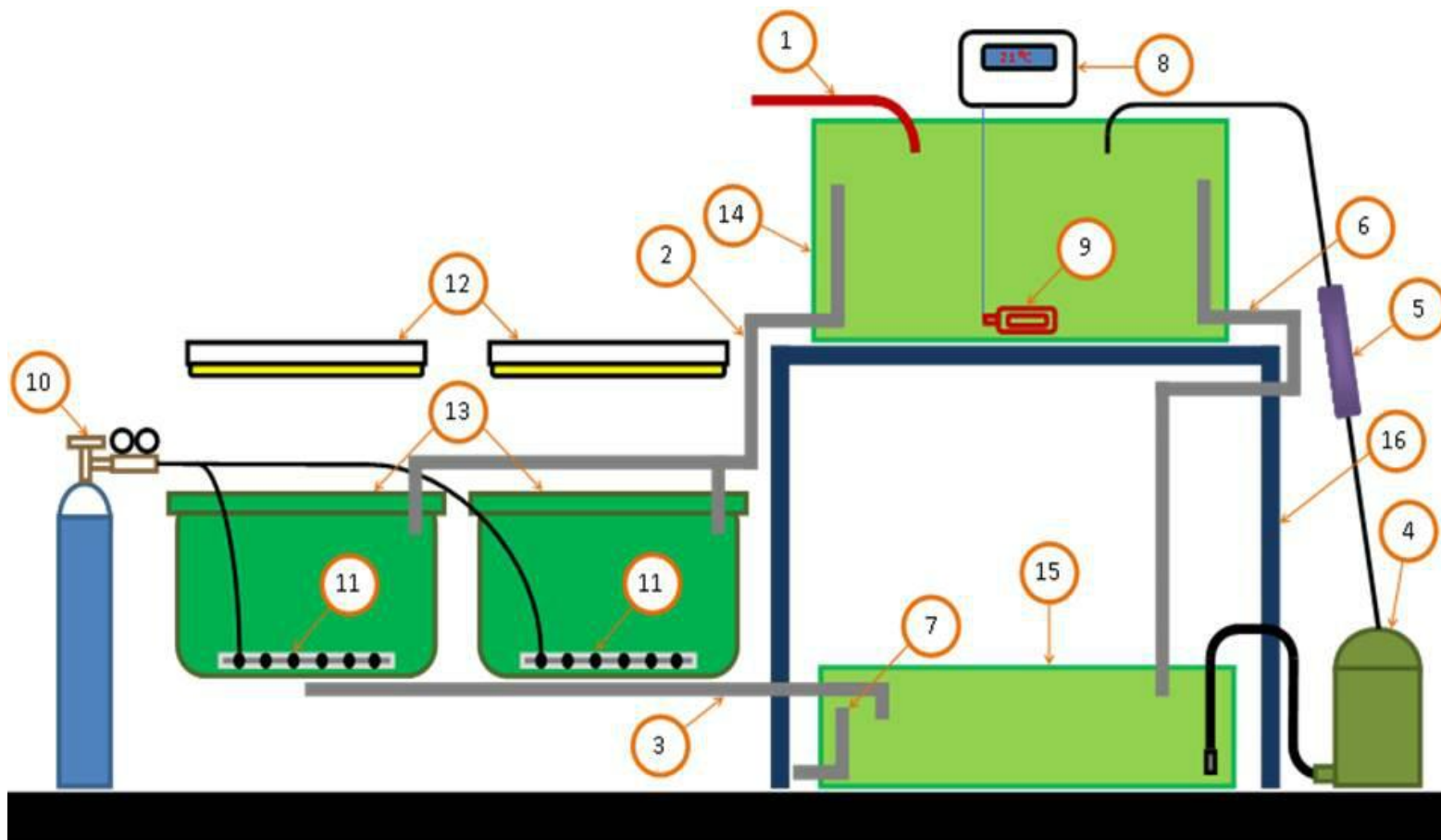


<http://www.gosrybwloclawek.pl/rybactwo-stawowe/jaz>



<https://wedkuje.pl/ryby/brzana/264>

Warunki przetrzymywania tarlaków



Rys. 7 . Uproszczony schemat recyrkulacyjnego systemu akwakulturowego służącego do rozrodu szczupaka (Żarski i Krejszeff 2014): 1 – dopływ wody; 2 – odpływ z górnego zbiornika retencyjnego do basenów tarlakowych; 3 – odpływ z basenów tarlakowych; 4 – filtr zewnętrzny (mechaniczno-biologiczny) poprzez który woda z basenu z rybami jest odprowadzana do górnego zbiornika retencyjnego; 5 – przelew awaryjny; 6 – odpływ wody z systemu; 7 – termoregulator; 8 – grzałka, spirala chłodząca lub inny wymiennik ciepła; 9 – butla z tlenem; 10 – rozpylacz (dyfuzor) gazów; 11 – oświetlenie; 12 – baseny rozrodowe; 13 – zbiornik górny retencyjny; 14 – zbiornik dolny retencyjny; 15 – stelaż pod zbiornik górny retencyjny.

Warunki przetrzymywania tarlaków



Fot. 1. RAS tarlakowy będący na wyposażeniu Centrum Akwakultury i Inżynierii Ekologicznej w Olsztynie.

Warunki przetrzymywania tarlaków

Tab. 4. Optymalne temperatury przetrzymywania tarlaków reofilnych ryb karpiowatych w trakcie przeprowadzania rozrodu kontrolowanego.

Gatunek	Temperatura przetrzymywania tarlaków przed tarłem (°C)	Temperatura po I iniekcji (°C)	Temperatura po II iniekcji (°C)	Źródło
Boleń	8,0-10,0	11,0*	12,0	1, 2
Świnka	8,0-10,0	11,0*	13,0	2, 3
Jaź	9,0-11,0	12,0*	14,0	4, 5
Certa	18,0-19,0	20,0	21,0*	2, 6
Kleń	18,0-19,0	20,0	21,0*	2, 7
Brzana	18,0-19,0	20,0	21,0*	2, 8

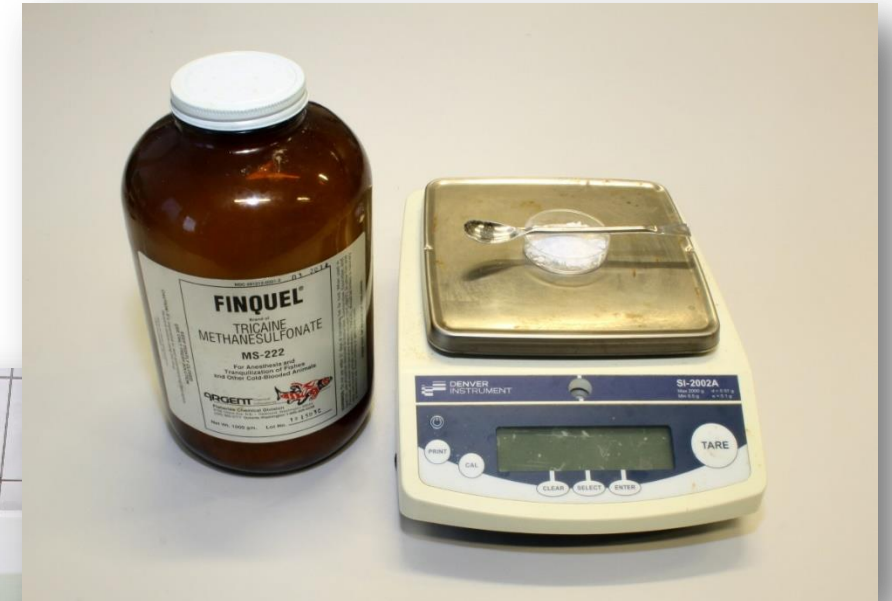
1 – Targońska i in. 2010, 2 – Krępski 2021 (informacja ustna); 3 – Źarski i in. 2011, 4 – Kucharczyk i in. 1999, 5 – Krejszeff i in. 2009, 6 – Śliwiński i in. 2000b, 7 – Krejszeff i in. 2008, 8 – Nowosad i in. 2016.

* moment podania preparatu hormonalnego samcom

Manipulacje na rybach - anestezja

Wymagane odczynniki i akcesoria

- anestetyk
 - MS-222 (0,1-0,15 g/l)
 - 2-fenoksyetanol (0,3-0,5 ml/l)
- zbiornik do anestezji
- zbiornik do odpijania
- napowietrzanie
- kasar



Źródło:

- Gilderhus 1990
- Krejszeff, Źarski & Cieśla 2018

Manipulacje na rybach - anestezja

Procedura

- rybę umieścić w wodzie z rozpuszczonym anestetykiem
- przetrzymać do czasu osiągnięcia znieczulenia ogólnego (max 15 minut)
- wyłowić i przeprowadzić manipulację:
 - pobieranie próbek oocytów
 - określanie masy ciała
 - przeprowadzanie iniekcji
 - pozyskiwanie gamet
- rybę umieścić w zbiorniku do odpijania
- po wybudzeniu z powrotem przenieść do basenu tarlakowego.



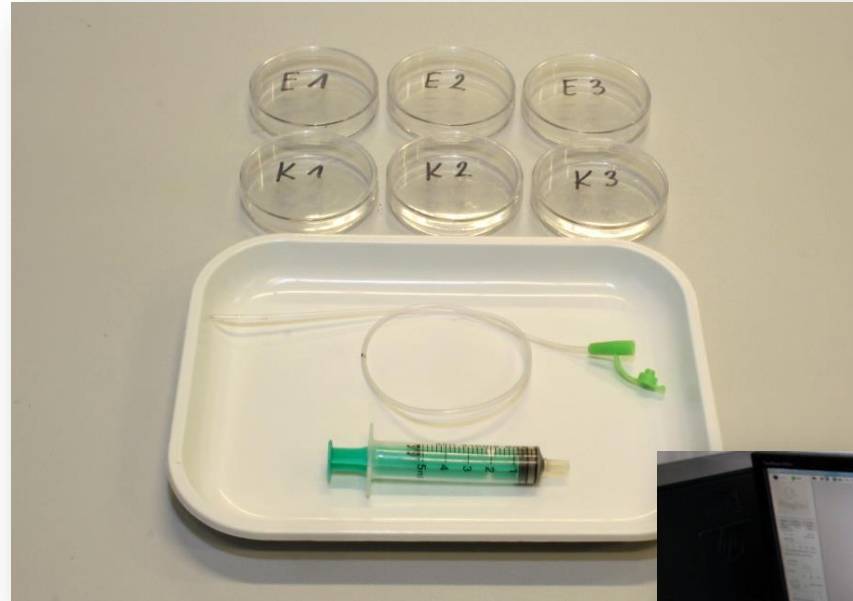
Źródło:

- Gilderhus 1990
- Krejszeff, Żarski & Cieśla 2018

Ocena stadium dojrzałości oocytów

Wymagane odczynniki i akcesoria

- kateter CH 6 - CH 9 (\varnothing 2,8 – 3,3 mm)
- strzykawka (5 ml)
- płyn Serra
 - 96% alkohol etylowy (6 części)
 - 36-38% formaldehyd (3 części)
 - lodowaty kwas octowy (1 część)
- szalki Petriego
- mikroskop stereoskopowy



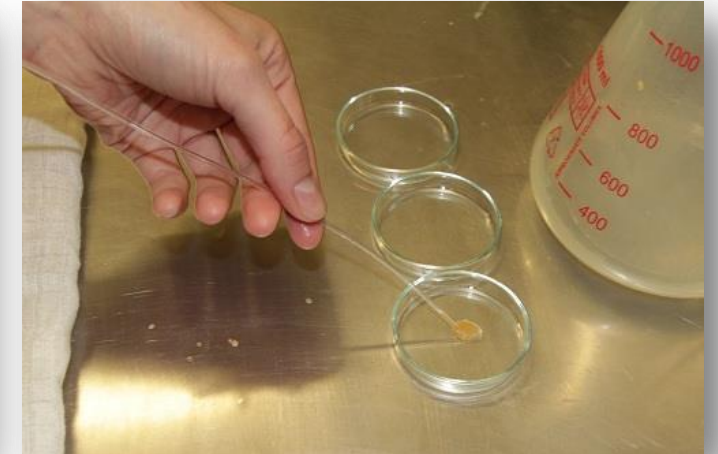
Źródło:

- Brzuska, Bieniarz 1977
- Krejszeff, Źarski & Cieśla 2018

Ocena stadium dojrzałości oocytów

Procedura

- do otworu płciowego wprowadzić podłączony do strzykawki kateter
- odciągnąć tłoczek strzykawki i zassać próbkę oocytów (około 50 szt.)
- oocyty umieścić na szalce Petriego i zalać płynem Serra
- po około 2-3 minutach każdą próbkę umieścić pod mikroskopem,
- samice, których oocyty znajdują się w 2/3-3 stadium dojrzałości poddać procedurze hormonalnej stymulacji
- samice, których oocyty znajdują się w 1-2 stadium dojrzałości poddać fototermalnej stymulacji finalnego dojrzewania oocytów
- kolejnych przeglądów dokonywać w 3-dniowych odstępach



Źródło:

- Brzuska, Bieniarz 1977
- Krejszeff, Źarski & Cieśla 2018

Przygotowanie preparatów hormonalnych

Wymagane odczynniki i akcesoria

- preparat hormonalny
- strzykawki (1, 2 ml lub 5 ml w przypadku tarlaków powyżej 1 kg)
- igły (0.8x40mm)
- morderz lub homogenizator
- płyn fizjologiczny
- alkohol etylowy (96%)
- szklane naczynie na przygotowany do iniekcji preparat



Źródło:

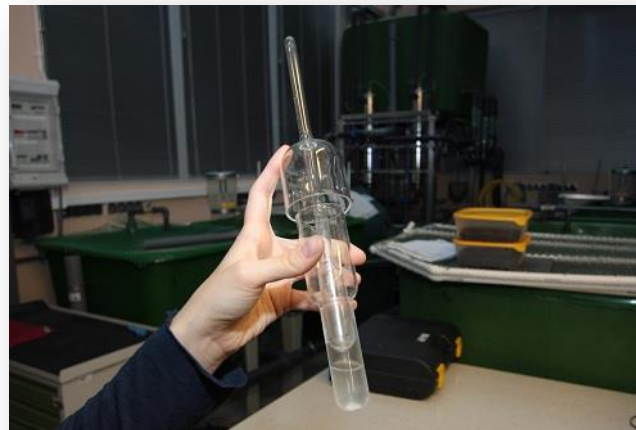
- Krejszeff, Źarski & Cieśla 2018

Przygotowanie preparatów hormonalnych - samce

Procedura

OVOPEL

- rozarty w moździerzu lub homogenizatorze preparat należy rozcieńczyć płynem fizjologicznym tak, żeby w **1 ml** przygotowanej zawiesiny znajdowała się **1 granula** preparatu



Źródło:

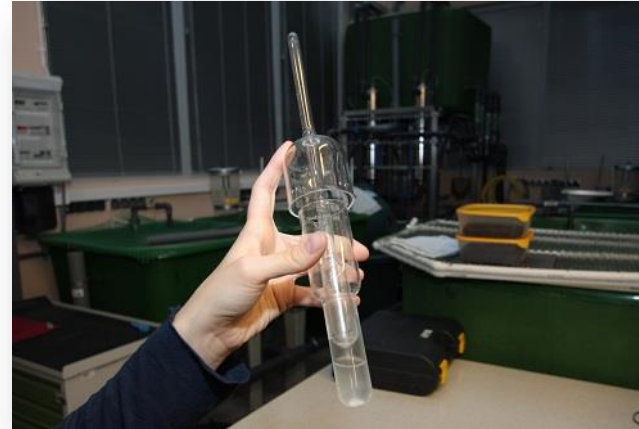
- Krejszeff, Źarski & Cieśla 2018

Przygotowanie preparatów hormonalnych - samice

Procedura

OVOPEL

- I iniekcja:
 - roztarty w moździerzu lub homogenizatorze preparat należy rozcieńczyć płynem fizjologicznym tak, żeby w **5 ml** przygotowanej zawiesiny znajdowała się **1 granula** preparatu
- II iniekcja:
 - roztarty w moździerzu lub homogenizatorze preparat należy rozcieńczyć płynem fizjologicznym tak, żeby w **1 ml** przygotowanej zawiesiny znajdowała się **1 granula** preparatu



Stymulacja owulacji i spermacji

Procedura

- tarlaka wprowadzić w stan znieczulenia ogólnego
- określić masę ryby z dokładnością do 10 g
- rybę ułożyć na stole manipulacyjnym
- przeprowadzić dootrzewnowo pod nasadę płetwy brzusznej I lub II iniekcję
- wybudzić ze znieczulenia ogólnego
- przenieść do basenu tarlakowego



Źródło:

- Kujawa 1998
- Jamróz i in. 2008
- Krejszeff i in. 2008
- Kucharczyk i in. 2008
- Cieśla i in. 2014
- Krejszeff, Źarski & Cieśla 2018

Rozród

Tab. 5. Reżim czasowy w trakcie przeprowadzania kontrolowanego rozrodu reofilnych ryb karpiowatych.

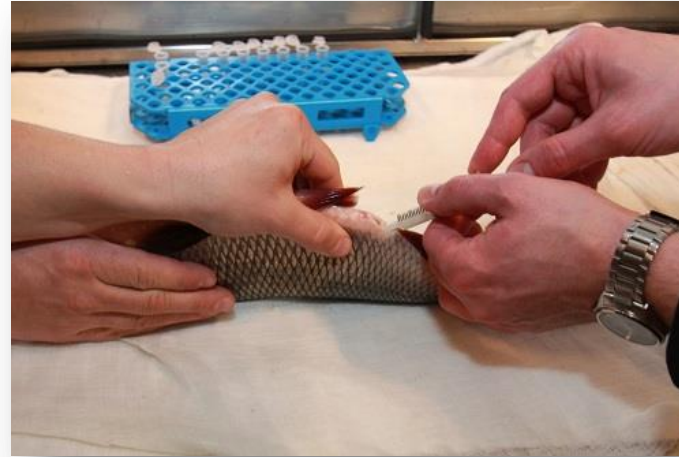
Gatunek	Odstęp czasu pomiędzy iniekcjami (h)	Latencja (h)	Autor
Boleń	12-24	40-48	1, 2, 3
Świnka	12-24	36	3, 4
Jaź	12-24	36-40	5, 6, 7
Certa	12	20-24	3, 8
Kleń	12	16	3, 9, 10
Brzana	12	18-22	3, 11

1 – Śliwiński 2000a, 2 – Targońska i in. 2010, 3 – Krępski 2021 (informacja ustna) 4 – Żarski i in. 2011, 5 – Kucharczyk i in. 1999, 6 – Krejszeff i in. 2009; 7 – Krejszeff i in. 2018, 8 – Śliwiński i in. 2000b, 9 – Krejszeff i in. 2008, 10 - Mizieliński i in. 2000, 11 – Nowosad i in. 2016.

Pozyskiwanie gamet - nasienie

Procedura

- wyłowić samca z basenu tarlakowego i wprowadzić w stan znieczulenia ogólnego
- rybę ułożyć na stole manipulacyjnym
- osuszyć powłoki brzuszne i pozyskać nasienie do strzykawki
- pozyskane nasienie umieścić w lodówce i przetrzymać w temperaturze 4,0°C (w strzykawce lub probówce typu Eppendorf)



Źródło:

- Cejko i in. 2010a,b

Pozyskiwanie gamet - ikra

Procedura

- wyłowić samicę z basenu tarlakowego i wprowadzić w stan znieczulenia ogólnego
- rybę ułożyć na stole manipulacyjnym
- osuszyć powłoki brzuszne
- ikrę pozyskać do suchego pojemnika
- pozyskaną ikrę przetrzymywać w szczelnie zamkniętym pojemniku



Źródło:

- Kujawa 1998
- Jamróz i in. 2008
- Krejszeff i in. 2008
- Kucharczyk i in. 2008
- Cieśla i in. 2014
- Krejszeff, Źarski & Cieśla 2018

Zapłodnienie i pozbawianie jaj kleistości

Procedura

- sporządzić płyn Woynarovicha
 - 30 g soli kuchennej
 - 40 g mocznika
 - 10 l wody wylęgarniczej
- sporządzić roztwór taniny
 - 5-8 g taniny
 - 10 l wody wylęgarniczej
- zważyć pozyskaną ikrę
- na każde 100 g ikry dodać 1 ml nasienia stanowiącego mieszaninę nasienia pozyskanego od minimum 3 samców
- do zmieszanych gamet dodać niewielką ilość wody wylęgarniczej i przeprowadzić zapłodnienie
- w trakcie zapłodnienia ikrę intensywnie mieszać plastikową łyżką przez mniej więcej 1 minutę



Źródło:

- Woynarovich i Horváth 1980
- Krejszeff, Źarski & Cieśla 2018

Zapłodnienie i pozbawianie jaj kleistości

Procedura (cd.)

- po przeprowadzeniu zapłodnienia przeprowadzić kąpiel zapłodnionych jaj w roztworze Woynarovicha
- do zapłodnionych jaj dodać roztwór w ilości około 10-20% objętości jaj i nieprzerwanie mieszać plastikową łyżką
- w kilku-kilkunastominutowych interwałach dodawać kolejne porcje płynu, równocześnie pozbywając się części roztworu
- po mniej więcej 1,0-1,5 godzinie należy zlać roztwór i przeprowadzić dwukrotną kąpiel jaj (2 x 15 s) w roztworze taniny przepłukując je między kąpielami czystą wodą
- po przepłukaniu w czystej wodzie obsadzić jaja na aparacie wylęgarniczym



Źródło:

- Woynarovich i Horváth 1980
- Krejszeff, Źarski & Cieśla 2018

Inkubacja jaj

Tab. 6. Temperatura i czas inkubacji oraz przeżywalność zarodków reofilnych ryb karpowatych.

Gatunek	temperatura inkubacji (°C)	czas inkubacji (doba)	przeżywalność zarodków (%)	Autor
Boleń	12,8	13	87,0	1
Świnka	14	6	82,1*	2, 3
Jaź	15,7	7	86,8	4
Certa	12,8-19,1	5-2	91,5-99,1	5
Kleń	19	4-5	93,3	6
Brzana	16-18	7	76,8-92,6	7

1 – Kujawa 1998, 2 – Furgała-Selezniow 2008, 3 – Żarski i in. 2008, 4 – Kupren 2005, 5 – Skrzypczak 2008, 6 – Kupren 2005, 7 – Kujawa 2008.

* stadium zaoczkowania

Inkubacja jaj i klucie zarodków

Procedura

- w dniu przewidywanego momentu wyklucia należy pobrać około 50 jaj, umieścić na szalce Petriego i odstawić na mniej więcej 30 minut
- jeśli liczba wyklutych larw na szalce będzie większa niż 50%, należy rozpocząć „masowe klucie”, jeśli mniejsza – odczekać min. 12 godzin
- w celu przyspieszenia klucia zarodków należy podnieść temperaturę wody o kilka stopni
- w celu opóźnienia klucia należy obniżyć temperaturę wody o kilka stopni



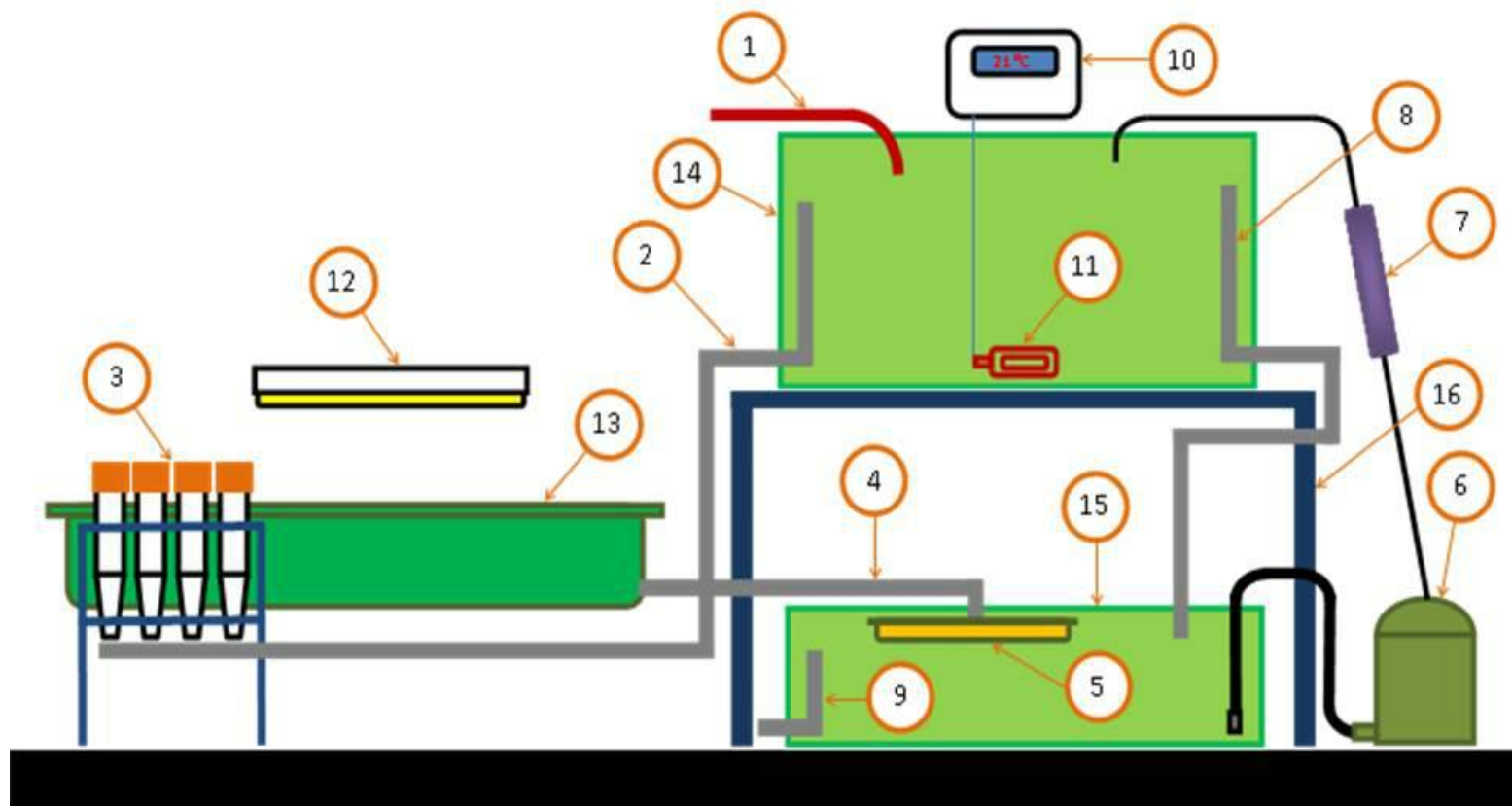
Inkubacja jaj i klucie zarodków

Procedura (cd.)

- gdy rozpoznanie gotowości larw do klucia będzie pozytywne, należy zamknąć dopływ wody do aparatu inkubacyjnego
- po kilkunastu minutach od zamknięcia dopływu należy zlewarować ikrę do miski, którą następnie należy w całości wypełnić wodą
- zawartość miski delikatnie zamieszać, tak aby ikra wraz z wyklutymi larwami zebrały się w centrum miski
- zlać osłonki poza miskę, uważając, żeby nie usuwać wyklutych larw
- czynność powtarzać do momentu, gdy na dnie miski pozostanie czysty wylęg
- wyklute larwy umieścić w basenie odbieralnikowym



Warunki inkubacji ikry i podchowu wylęgu



Rys. 9. Uproszczony schemat obiegu do inkubacji ikry i wstępnego podchowu larw (wg Żarski, Krejszeff 2011, zmodyfikowany): 1 – dopływ wody do systemu; 2 – zasilanie w wodę aparatów inkubacyjnych; 3 – aparaty inkubacyjne; 4 – odpływ wody z odbieralnika/podchowalnika larw; 5 – filtr mechaniczny; 6 – filtr zewnętrzny poprzez który woda pompowana jest do górnego zbiornika retencyjnego; 7 – sterylizator UV; 8 – przelew awaryjny; 9 – odpływ wody z systemu; 10 – termoregulator; 11 – grzałka lub inny wymiennik ciepła; 12 – oświetlenie; 13 – odbieralnik/podchowalnik larw; 14 – górny zbiornik retencyjny; 15 – dolny zbiornik retencyjny; 16 – stelaż.

Warunki inkubacji ikry i podchowu wylęgu



Fot. 2. RAS wylęgarniczy będący na wyposażeniu Centrum Akwakultury i Inżynierii Ekologicznej w Olsztynie.

Dziękuję za uwagę