

Instrukcja doradcza

nr 2/RJ/2020

Sztuczny rozród sterleta (*Acipenser ruthenus*)

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”;
ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**

Instrukcja doradcza

Sztuczny rozród sterleta (*Acipenser ruthenus*)

Autorzy:

Dr hab. inż. Mirosław Szczepkowski

Dr inż. inż. Bożena Szczepkowska

Mgr Iwona Piotrowska

Dr Michał Kozłowski

Zakład Hodowli Ryb Jesiotrowatych, Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława
Sakowicza w Olsztynie

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”;
ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**

Spis treści

1. Planowanie rozrodu	4
2. Rozpoznawanie płci.....	5
3. Warunki dojrzewania.....	8
4. Stymulacja hormonalna	14
5. Pozyskiwanie ikry jesiotrów.....	15
6. Problemy pozyskiwania ikry	20
7. Pozyskiwanie nasienia.....	20
8. Procedura zapłodnienia	21
9. Literatura	23

1. Planowanie rozrodu

Ryby jesiotrowate osiągają dojrzałość płciową bardzo późno, wyjątkiem jest sterlet, najmniejszy spośród ryb jesiotrowatych. Przygotowania do rozrodu w warunkach kontrolowanych obejmują kilka etapów i rozpoczynają się już na etapie formowania stada matecznego. Kluczowym elementem wstępnego planowania rozrodu jest dobór tarlaków. Ze względu na szybkie osiągnięcie dojrzałości płciowej sterlet wykorzystywany jest do tworzenia krzyżówek. Oprócz formy o typowym ciemnym ubarwieniu występują również formy albinotyczne (fot. 1), charakteryzujące się ikrą o jasnożółtym ubarwieniu.



Fot. 1. Formy sterleta o ubarwieniu normalnym i albinotycznym.

Potencjalne zagrożenia przy rozrodzie związane są przede wszystkim z aspektami genetycznymi, to jest m.in.:

- występowaniem licznych krzyżówek tworzonych w sztucznych warunkach, w tym również niepłodnych,
- niewielką liczebnością początkową ryb wykorzystywanych w hodowli i znaczną możliwością spokrewnienia ryb,
- występowaniem osobników obojnaczych (hermafrodytów) (Williot i in. 2005),
- zróżnicowanymi cechami osobników tego samego gatunku, pochodzącymi z różnych populacji o różnym tempie wzrostu i wrażliwości na czynniki środowiskowe.

Podstawowym warunkiem rozrodu jest odpowiedni wiek i masa ciała tarlaków. Różni się on znacznie u rozmaitych gatunków ryb jesiотrowatych. U sterleta nie należy się jednak kierować wyłącznie tym kryterium, gdyż możliwe jest osiągnięcie dojrzałości płciowej także przez znacznie mniejsze osobniki: samice o masie ciała około 1 kg i samce około 0,6-0,8 kg.

Przy wyborze ryb do planowanego rozrodu należy zwrócić uwagę na zachowanie proporcji płci. Należy zaplanować liczbę samic potrzebnych do realizacji planu hodowli. U większości gatunków jesiотrów samice nie rozradzają się co roku, a w dłuższych odstępach czasu, nawet co 2-5 lat. W przypadku sterleta tarło można przeprowadzać corocznie. W praktyce oznacza to, że aby realizować corocznie chów sterletów należy przede wszystkim zadbać o kondycję ryb i nie dopuścić do ich przekarmiania, gdyż to prowadzi do otluszczenia gonad i eliminuje z odbycia tarła.

W naturze proporcje płci są zbliżone, to znaczy, że ilość samic i samców w podchowywanej populacji powinna być podobna. W przypadku pozyskiwania ryb do tarła ze źródeł zewnętrznych należy mieć na uwadze to, że mogło być przeprowadzone sortowanie ryb i proporcje płci zostały zaburzone. Taka sytuacja ma miejsce np. w hodowlach zajmujących się produkcją kawioru. Samice są wówczas odbierane do dalszej hodowli, zaś odsortowane samce na bieżąco są przeznaczane do sprzedaży.

2. Rozpoznawanie płci

Do rozpoznawania płci u ryb mogą być wykorzystywane różne metody, m.in. polegające na wykonywaniu biopsji, poprzez tzw. trokarowanie lub nacięcia skalpelem (Falahatkar i in. 2013) oraz z wykorzystaniem technik ultrasonografii (fot. 2) i endoskopii (Moghim i in. 2002, Hurvitz i in. 2007). Skomplikowaną i kosztowną metodą, z tego względu niestosowaną dotychczas w praktyce komercyjnych gospodarstw hodowlanych, jest określanie płci na podstawie koncentracji hormonów w osoczu krwi (Feist i in. 2004).

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”; ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**



Fot. 2. Ocena stanu dojrzałości za pomocą aparatu USG.



Fot. 3. Trokary do wykonywania biopsji: u góry trokar ze stali nierdzewnej, na dole wykonany samodzielnie trokar z anteny radiowej.

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”; ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**

W praktyce do rozpoznawania płci wykorzystuje się technikę biopsji oraz ultrasonografii (USG). Obydwie metody mogą być stosowane u sterleta, jednak wymagają dużego doświadczenia wykonującego je specjalisty. Należy tu podkreślić, że obecnie w praktyce hodowlanej badanie ultrasonograficzne pozwala na wcześniejsze zdiagnozowanie płci ryb niż przy użyciu trokara.

W technice biopsji wykorzystuje się trokar (fot. 3), który wprowadzamy do jamy ciała z bocznej lub dolnej strony ciała. Trokar powinien być wykonany ze sztywnej rurki z zaostrzoną końcówką, wydrążonej wewnątrz, z trzonkiem umożliwiającym wygodny uchwyt. Średnica wewnętrzna trokara (wydrążenia) powinna być dobrana do gatunku jesiotrów i musi umożliwić pobranie w pełni dojrzałego oocytu (tab. 1).



Fot. 4. Ubarwienie gonad samców (białe) i samic (żółte).

Tab. 1. Wielkość oocytów wybranych gatunków ryb jesiotrowatych.

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”; ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**

Gatunek	Wielkość dojrzałych oocytów (mm)
Jesiotr syberyjski	2,4 – 2,7
Jesiotr rosyjski	2,8 – 3,0
Sterlet	1,8 - 2,1
Bieluga	3,6 – 4,5
Jesiotr ostronosy	1,8 – 2,4

Przy ocenie młodych ryb jesiotrowatych, gdy u samic nie można wyodrębnić makroskopowo oocytów, ważnym kryterium umożliwiającym rozróżnienie płci jest barwa gonady. Biła w przypadku samców i żółta w przypadku samic (fot. 4).

3. Warunki dojrzewania

Po wyborze ryb do stada tarłowego następuje okres dojrzewania. Samce, podobnie jak u większości gatunków ryb wcześniej osiągają dojrzałość płciową. U samic sterleta okres zmian i wzrostu gonad aż do osiągnięcia IV stadium - tzw. czarnej ikry jest dłuższy i może wynosić w naszych warunkach klimatycznych 4-5 lat. W tym czasie konieczne jest zapewnienie warunków minimalizujących ryzyko i błędy hodowlane. Najważniejszymi czynnikami, na które należy zwrócić uwagę są odpowiednie warunki środowiskowe i żywienie.

Do utrzymywania tarlaków można wykorzystywać różne systemy hodowlane. Mogą to być stawy betonowe typu pstrągowego, stawy ziemne, a nawet systemy recyrkulacyjne. Istotnym czynnikiem stymulującym dojrzewanie jest temperatura wody. W warunkach kontrolowanych (w stosunku do naturalnej termiki wody) okres osiągania dojrzałości płciowej ryb jesiotrowatych ulega znacznemu skróceniu, w przypadku niektórych gatunków nawet o kilka lat, u sterleta o jeden rok.

Ryby jesiotrowate można zaliczyć do grupy o umiarkowanych wymaganiach środowiskowych. Najważniejsze czynniki, które mogą mieć wpływ na tarlaki to temperatura wody i zawartość tlenu oraz poziom azotu amonowego i azotynów w wodzie. Sterlet jest gatunkiem wrażliwym na wysokie temperatury wody. Niebezpieczne jest długotrwałe utrzymywanie się temperatury powyżej 27 °C. Koncentracja tlenu nie

powinna spadać poniżej 50% nasycenia, natomiast zawartość amoniaku i azotynów nie powinna przekraczać 1 mg/l. Szczególnie dużą wrażliwość wykazują tarlaki w okresie bezpośrednio przed tarłem. Stwierdzono, że nawet krótkotrwały wzrost amoniaku bądź azotynów do wartości 4-5 mg/l może wywoływać śnięcia.

W żywieniu ryb przeznaczonych do sztucznego rozrodu należy wykorzystywać pasze dla reproduktorów. Charakteryzują się one wyższą zawartością białka (48-52%) i witamin oraz niższą zawartością tłuszczu (9-14%) w porównaniu do typowych pasz tuczowych. Karmienie ryb powinno być kontynuowane również w okresie zimowym. Latem żywienie tarlaków sterleta w okresie występowania temperatur wody powyżej 23 °C powinno być ograniczone i ściśle kontrolowane, natomiast powyżej 25 °C należy zaprzestać podawania pasz. Dobowa dawka pokarmowa dla tarlaków może być skarmiona w 1-2 porcjach, jednak korzystniejsze jest podzielenie jej na mniejsze dawki. Pasza może być podawana całodobowo. Często przy żywieniu reproduktorów popełniane są różne błędy hodowlane, które wpływają na efektywność późniejszego rozrodu. Przede wszystkim należy unikać nadmiernego żywienia, ponieważ szybki wzrost i osiągnięcie dużej masy ciała nie są równoznaczne z uzyskaniem dojrzałości płciowej. Stwierdzono, że przy karmieniu tarlaków sterleta dawkami paszy w zakresie 0,5, 0,75, 1,0% biomasy ryb, największy wzrost uzyskano w grupie żywionej dawką 1,0%, natomiast efekty sztucznego rozrodu były znacznie lepsze w grupie żywionej dawką 0,75% (Szczepkowski i in. 2015). W skrajnych przypadkach, przy stosowaniu zbyt intensywnego karmienia lub niewłaściwych pasz może to doprowadzić do nadmiernego otluszczenia ryb i nieprawidłowego dojrzewania gonad.

Dysponując rybami w odpowiednim wieku i kondycji możemy przystąpić do ostatniego etapu przygotowań do sztucznego rozrodu. Polega on na wyborze tarlaków dojrzałych do rozrodu w danym roku na podstawie przeglądu wszystkich ryb. Przeprowadza się go po zakończeniu intensywnego wzrostu ryb, po spadku temperatur poniżej 10 °C. Wstępne typowanie tarlaków polega na ocenie cech zewnętrznych ciała, takich jak: ubarwienie otworu płciowego (jego zaczerwienie może świadczyć o dojrzałości, fot. 5), występowanie szaty godowej w postaci wysypki (lub intensywnego

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”; ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**

białego nalotu na głowie ryb) oraz kształt powłok brzusznych (fot. 6), które u dojrzałych samic powinny być wyraźnie wypełnione.



Fot. 5. Ubarwienie otworu moczowo-płciowego u jesiota dojrzałego płciowo (z lewej) i niedojrzałego (z prawej).



Fot. 6. Kształt powłok brzusznych u dojrzałej samicy (z lewej) i charakterystyczne białe ubarwienie głowy (z prawej).

Cechy zewnętrzne stanowią jednak tylko kryterium pomocnicze, ponieważ nie w każdym przypadku pozwalają na precyzyjną ocenę stanu dojrzałości tarlaka. W szczególności dotyczy to samic dojrzewających po raz pierwszy. Dlatego ostateczną decyzję co do dojrzałości należy podjąć na podstawie oceny stanu rozwoju gonad. Wykorzystuje się do tego celu wspomniane już techniki biopsji i ultrasonografii.

Za pomocą aparatu USG możemy dokonać oceny stanu całych gonad oraz przybliżonej wielkości oocytów. Dzięki kompleksowemu przeglądowi całej jamy brzusznej możemy wychwycić ewentualne zakłócenia rozwoju (np. nierównomierny rozwój gonady, występowanie złogów tłuszczu), które mogą następnie skutkować problemami podczas rozrodu. Przy użyciu tej techniki nie możemy jednak dokonać dokładnej oceny stanu dojrzałości ryb, szczególnie samic. Do tego celu niezbędne jest wykonanie biopsji i pobranie próbki gonady wg metody opisanej przez Kazanskiego i in. (1978). W przypadku pobrania oocytów w IV stadium kolejnym krokiem jest ocena indeksu polaryzacji jądra komórkowego. Polega ona na określeniu przesunięcia jądra komórkowego w kierunku brzegu oocyty (fot. 7) – im bliżej brzegu krawędzi oocyty znajduje się jądro, tym bardziej dojrzała jest samica.

Praktyczną ocenę indeksu przesunięcia jądra przeprowadza się w następujący sposób:

- pobrane oocyty należy gotować w gorącej wodzie przez około 3-4 minuty,
- przy użyciu pęsety i skalpela przeciąć oocyt na pół w kierunku od bieguna wegetatywnego do animalnego, to jest w dłuższej osi lekko owalnych oocytów. Ponadto na biegunie animalnym widoczna jest ciemniejsza plamka, poniżej której znajduje się jaśniejsza obwódka;
- w przeciętych oocytach pod mikroskopem należy określić stosunek odległości jądra komórkowego od brzegu oocyty do całkowitej wielkości oocyty. Stosunek wielkości poniżej 0,07 oznacza możliwość przejścia do ostatniego etapu przygotowania do rozrodu - gotowość ryby do owulacji po zastosowaniu iniekcji hormonalnej.

W praktyce hodowlanej tarlaki zazwyczaj znajdują się w różnym stadium dojrzałości, dlatego aby uniknąć bardzo pracołłonnego rozrodu pojedynczych osobników należy zastosować procedury stymulacji fototermicznej, które pozwolą na osiągnięcie dojrzałości wszystkich ryb i nie dopuszczą do przejrzenia ryb z oocytami najbardziej zaawansowanymi w dojrzałości. Poniżej przedstawiono schemat fototermiczny pozwalający na osiągnięcie tego celu.



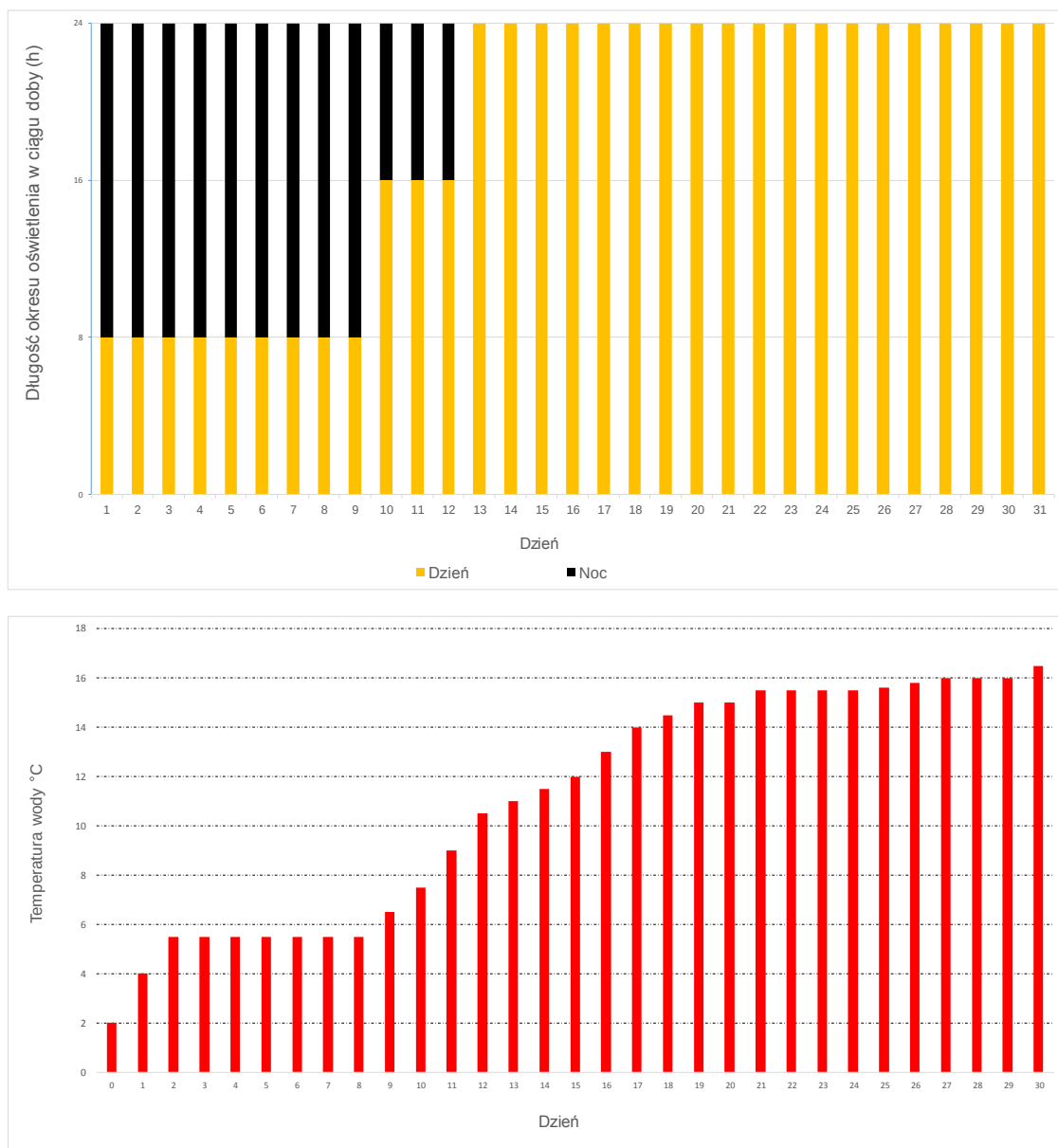
Fot. 7. Oocyty po ugotowaniu i przekrojeniu z widocznym przesuniętym jądrem komórkowym (linie ze strzałkami oznaczają sposób pomiaru wielkości oocytu i przesunięcia jądra).

Ułatwieniem prac hodowlanych jest prowadzenie bazy tarlaków w oparciu o indywidualne znakowanie ryb. Do tego celu wykorzystuje się znaczkę typu PIT (Passive Integrated Transponder) wprowadzaną domięśniowo. Najczęściej umieszczane są pod pierwszą lub drugą płytką grzbietową, co ułatwia ich odczyt oraz odnalezienie i wydobywanie po ewentualnym śnięciu ryby.

Zastosowanie znakowania daje szereg korzyści: zmniejsza liczbę koniecznych manipulacji podczas przeglądów (nie musimy wykonywać corocznych biopsji samców, podobnie samic w kolejnym roku po rozrodzie) i pozwala ocenić jakość hodowlaną poszczególnych tarlaków. Może być również wykorzystywane w programach

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”; ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**

doskonalenia hodowlanego (krzyżowania najbardziej dopasowanych pod względem genetycznym tarlaków).



Rys. 1. Procedura zmian oświetlenia (górny wykres) i temperatury wody (dolny wykres) w okresie przedtarłowym.



Fot. 8. Umieszczanie transpondera PIT.

4. Stymulacja hormonalna

Do wywołania owulacji samic w warunkach kontrolowanych niezbędne jest zastosowanie stymulacji hormonalnej, chociaż w sporadycznych przypadkach obserwowano jej wywołanie wyłącznie warunkami środowiskowymi (Szczepkowski 2011). Podobnie jak u większości innych gatunków ryb, preparaty hormonalne podaje się samicom w dwóch dawkach, w odstępie 12-godzinnym. Najczęściej do tego celu wykorzystuje się przysadkę mózgową ryb karpiowatych ($4-8 \text{ mg kg}^{-1} \text{ m.c}$) lub LH-RH ($0,1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ m.c}$) (Horváth i in. 1986, Kolman 2005). U samców najczęściej wykonuje się jednokrotną iniekcję, 24 lub 36 godzin przed przewidywanym terminem sztucznego tarła. Dawka hormonu w przypadku stosowania LH-RH wynosi $0,03 \text{ mg kg}^{-1} \text{ m.c}$.

U jesiotrów hormony podaje się domięśniowo, a miejsce wstrzyknięcia jest masowane, co pomaga wprowadzić hormon (Conte i in. 1988). Sterlety są iniekowane po ich wyjęciu z basenów. Po wkłuciu igły i wstrzyknięciu hormonu pozostawiamy

strzykawkę na okres 1-2 minut w ciele ryb i dopiero po tym czasie ją wyjmujemy. W takim przypadku nie jest konieczne masowanie miejsca wstrzyknięcia hormonu. Hormon powinien być przygotowany w taki sposób, aby ilość wprowadzanego do mięśni ryby roztworu nie przekraczała 0,2 ml na 1 kg masy ciała.

5. Pozyskiwanie ikry jesiotrów

Symptodem zbliżania się owulacji jest wzrost aktywności samic, natomiast pewnym wskaźnikiem jej przebiegu obecność ikry na dnie basenu, w którym są przetrzymywane tarlaki. Oceny można dokonać wizualnie lub poprzez zebranie i przegląd osadu z dna basenów (za pomocą lewarowania lub gęstego kasarka).

Okres od iniekcji do pozyskania ikry jest cechą bardzo zmienną w różnych ośrodkach hodowlanych i u sterleta waha się najczęściej od 18 do 24 godzin. Dłuższy czas jest najczęściej związany z problemami końcowego dojrzewania i jego efektem jest niska jakość pozyskanej ikry. W jednakowych warunkach środowiskowych okres od iniekcji do owulacji jest krótszy w przypadku stosowania LH-RH niż homogenizatu przysadki. Należy zwrócić uwagę na fakt bardzo szybkiego przejrzenia wyowulowanej ikry, dlatego trzeba dokładnie określić moment jej pobierania. Okres od owulacji do zapłodnienia nie powinien przekraczać 2 godzin, po tym czasie zdolność do zapłodnienia gwałtownie maleje. Widocznym tego objawem jest zmiana konsystencji ikry (jej zmięknienie i związana z tym łatwość pęknięcia) oraz zabarwienia – staje się bardziej biała.

Ryby jesiotrowate posiadają szereg cech powodujących konieczność stosowania w ich rozrodzie innych rozwiązań niż w przypadku większości ryb. Należy do nich m.in. specyfika budowy układu rozrodczego, uniemożliwiająca bezpośrednie pozyskiwanie ikry techniką stosowaną najczęściej u innych gatunków ryb, tzn. jedynie poprzez ucisk i masaż powłok brzusznych. U ryb jesiotrowatych jajowody mają postać lejków otwartych do jamy ciała, których wlot znajduje się daleko od otworu płciowego (fot. 9).



Fot. 9. Wlot lejka jajowodu w jamie ciała na przykładzie samicy jesiotra syberyjskiego (oznaczony strzałką).

Porcje dojrzałej ikry wpadają do jamy ciała, a następnie trafiają do rozszerzonych zakończeń jajowodów. Po wyrzuceniu porcji ikry „lejki” zamykają się i po pewnym czasie cykl powtarza się. To przystosowanie anatomiczne samic do tarła porcyjnego umożliwia rozmieszczenie ikry na dużej przestrzeni tarliska, co w przypadku tarła naturalnego jest korzystne, natomiast stanowi poważne utrudnienie przy sztucznym rozrodzie jesiotrów.

Metody pozyskiwania ikry sterleta

Nacinanie jajowodu

W tej metodzie ikrę pozyskuje się poprzez nacinanie końcowego odcinka jajowodu (Podushka 1999). Metoda ta wymaga precyzyjnego użycia odpowiednio

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”; ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**

przystosowanego do tego celu skalpela chirurgicznego. Dzięki powstałemu po nacięciu otworowi ikra nie musi przechodzić przez cały jajowód, a tylko przez jego końcowy odcinek. W ten sposób możliwe jest zebranie całej wyowulowanej ikry do przygotowanego naczynia. Ilość pobieranej ikry jest o około 10% mniejsza niż w metodzie tradycyjnej, z rozcięciem powłok brzusznych (Bani i Banan 2010).



Fot. 10. Pobieranie ikry sterleta poprzez podcięcie końcowej części jajowodu skalpelem.

Ograniczeniem tej metody jest możliwość nieprawidłowego zabliźniania się delikatnych jajowodów (powstawanie tzw. zrostów), co może utrudniać pobieranie ikry podczas kolejnych rozrodów. Ponadto wymaga ona od osoby wykonującej zabieg dużego doświadczenia, istnieje bowiem możliwość nieprawidłowego wykonania nacięcia i zranienia ryby, co często prowadzi do jej śnięcia.

Pobieranie ikry cewnikiem

Pobieranie ikry polega na wprowadzaniu cewnika do jamy ciała przez otwór płciowy i jajowód (fot. 11) (Szczepkowski i Kolman 2011). Jako cewniki służą wężyki polipropylenowe lub silikonowe o średnicy dobranej do wielkości ryb.



Fot. 11. Pobieranie ikry za pomocą cewnika wprowadzonego do jamy ciała.

U sterleta można stosować cewniki o średnicy maksymalnie 6-8 mm. Długość cewnika powinna wynosić około 1/3 długości ciała ryby. Istotą metody jest wprowadzenie cewnika w ten sposób, aby jego koniec znalazł się w jamie ciała samicy i umożliwił otwarcie wlotu jajowodu. Następnie poprzez masaż powłok brzusznych w wyniku powstałego ciśnienia ikra jest wtłaczana do rurki, którą przepływa do naczynia zbiorczego. Ważne jest, aby koniec rurki znajdował się poniżej ciała samicy. Zaletą pozyskiwania ikry cewnikiem jest mniejsza inwazyjność, związana z brakiem zabiegów chirurgicznych i konieczności używania skalpela. Wprowadzanie cewnika dość głęboko do ciała wymaga dużej ostrożności, ale nie powoduje często obserwowanego przy podcinaniu jajowodu krwawienia. Dzięki temu ryba może lepiej znieść sztuczne tarło i

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”; ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**

szybciej wrócić do dobrej kondycji. Pobieranie ikry przy użyciu cewnika jest również łatwiejsze dla osób, które nie mają dużego doświadczenia z rozrodem jesiotra.

Pozyskiwanie ikry – wskaźniki ilościowe

Ilość pozyskiwanej ikry jest najniższa podczas pierwszego rozrodu. U ryb jesiotrowatych dojrzewających po raz pierwszy w Zakładzie Hodowli Ryb Jesiotrowatych w Pieczarkach wynosiła ona przeciętnie 10 - 12% masy ciała, a podczas kolejnych rozrodów była o około 1-3% większa (Szczepkowski 2013). U starszych samic sterleta ilość pozyskanej ikry może sięgać nawet 20 – 25% masy ciała.

Czas pobierania głównej (pierwszej) porcji ikry u sterleta mieści się najczęściej w granicach od 5 do 8 minut. Ilość ikry pozyskiwanej w kolejnych porcjach jest znacznie niższa niż przy pierwszym pobraniu i najczęściej nie przekracza 10- 20% całkowitej ilości. Wielkość ziaren ikry jest silnie zróżnicowana w zależności od wielkości samic: u sterleta w 1 kg ikry znajduje się 120-180 tys. ziaren.



Fot. 12. Pozyskana ikra sterleta o ubarwieniu albinotycznym.

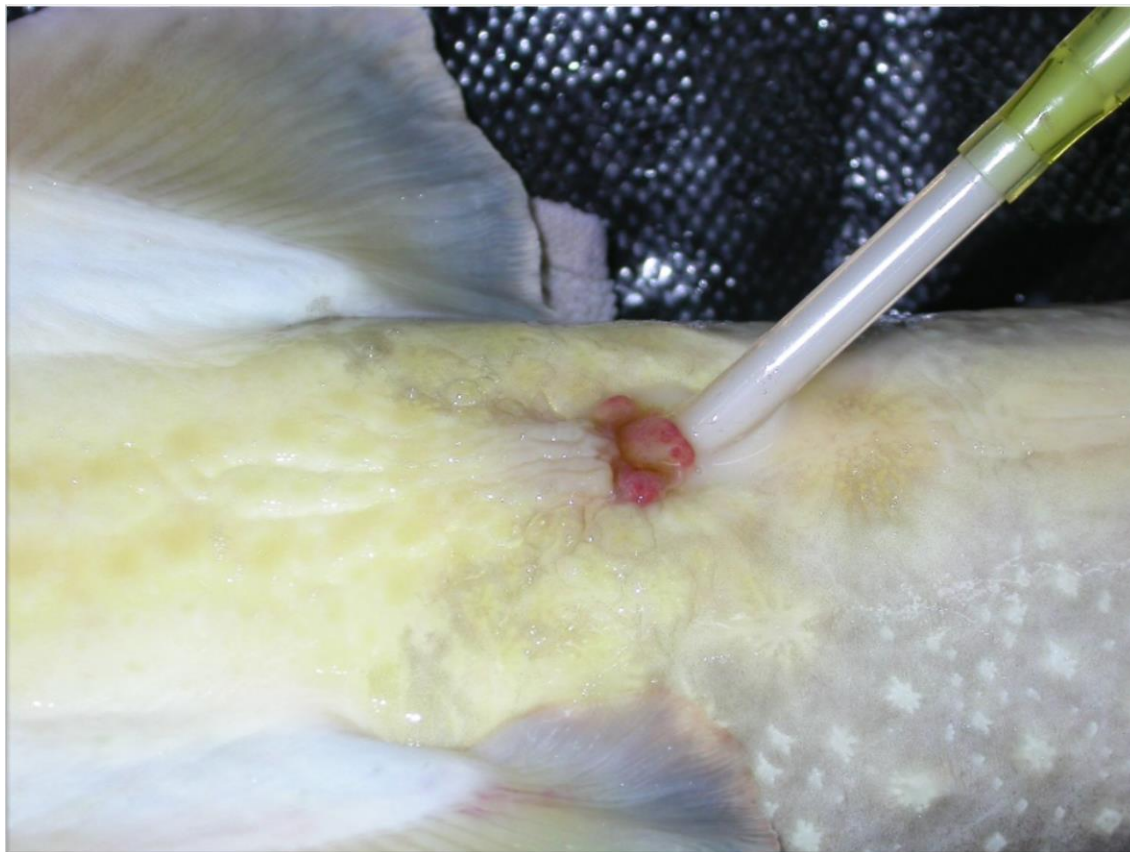
6. Problemy pozyskiwania ikry

Jednym z największym problemów podczas pozyskiwania ikry jesiotrów jest występowanie w gonadzie skrzepów, fragmentów tłuszczu lub błon, co najczęściej jest obserwowane w przypadku samic dojrzewających po raz pierwszy lub nieprawidłowo przygotowywanych do tarła (np. zbyt intensywnie żywionych). Utrudnia to pobieranie ikry zarówno przy podcinaniu jajowodu, jak również pobieraniu ikry cewnikiem. Także w przypadku gęstej ikry, z małą ilością płynu jajnikowego, jej przepływ przez cewnik może być utrudniony.

7. Pozyskiwanie nasienia

Ilość pobieranego nasienia od pojedynczego samca sterleta jest na ogół niewielka i może się wahać od kilku do kilkunastu ml w zależności od wielkości osobnika. Jego pozyskiwanie odbywa się za pomocą katetera (fot. 13) lub poprzez masaż powłok brzusznych i bezpośrednie wyciskanie mlecza do większego naczynia. W przypadku małych osobników (poniżej 1 kg) skuteczniejszą metodą jest masaż powłok brzusznych, ponieważ umożliwia pozyskanie nawet niewielkich ilości nasienia (do kilku mililitrów). Katetera należy używać bardzo delikatnie, tak aby nie uszkodzić naczyń krwionośnych, co spowoduje zanieczyszczenie mlecza krwią.

Jakość nasienia jest gorsza podczas rozrodu przedsezonowego (Judycja i in. 2015). Zmienia się również w trakcie prowadzonego rozrodu. Najczęściej pierwsza pobrana porcja nasienia charakteryzuje się niską jakością i poprawia się przy kolejnych pobraniach.



Fot. 13. Pobieranie nasienia kateterem.

8. Procedura zapłodnienia

Przy zapładnianiu ikry jesiotrów najbardziej efektywna jest tzw. metoda półsucha, polegająca na dodawaniu do pozyskanej ikry mleczka rozcieńczonego wodą. Jest to możliwe, ponieważ zarówno oocyty, jak i plemniki jesiotrów po kontakcie z wodą zachowują zdolność do zapłodnienia i ruchu przez stosunkowo długi okres, nawet do kilkudziesięciu minut (Ginsburg 1968). Rozcieńczanie mleczka w wodzie (w stosunku od 1:50 do 1:200) ma celu zapobieganie zjawisku polispermii, czyli wnikanii do jaja więcej niż jednego plemnika. Jest to możliwe, ponieważ w oocytach jesiotrów jest wiele mikropyli. Skutkiem polispermii są nieprawidłowe podziały zapłodnionej ikry i powstawanie różnego rodzaju deformacji rozwijających się zarodków.

Ikra ryb jesiotrowatych charakteryzuje się bardzo dużą kleistością. Dlatego w praktyce, po dodaniu roztworu zapładniającego ikrę pozostawia się w spokoju tylko na

Projekt pt.: Program Doradztwa Rybackiego „Rozradzanie, wylęgarnictwo, podchów ryb i zarybianie”; ETAP I; Akronim „DORADZTWO”; Nr Umowy: **00002-6521.2-OR1400003/18/20** z dnia **16.01.2020 r.**

okres około 3 minut. Do rozklejania ikry jesiotrów stosuje się m.in. muł rzeczny (ziemię Fullera), kaolin, roztwór mleka, roztwór taniny lub kombinacje tych środków. W przypadku pierwszych trzech metod czas konieczny do pozbawienia ikry kleistości wynosi około 1 godziny. Przy zastosowaniu taniny (stężenie 1:2000, dwukrotne przepłukiwanie ikry, przez 45 i 30 sekund) proces odklejania kończy się po około 10 minutach od początkowego kontaktu ikry z wodą (Kolman i Szczepkowski 2005). Odklejanie jest zabiegiem koniecznym, ale przy niewłaściwym wykonywaniu może mieć negatywny wpływ na przebieg inkubacji.



Fot. 14. Odklejanie ikry w roztworze taniny.

W przypadku taniny należy zwrócić uwagę na źródło pochodzenia substancji. Wypracowana procedura odnosi się do odczynnika czystego chemicznie, który gwarantuje zakładane efekty działania. Należy przestrzegać zalecanego stężenia roztworu

i czasu płukania ikry, w przeciwnym razie mogą wystąpić silne zmiany otoczek i ich utwardzenie, co skutkuje utrudnieniem możliwości wchłaniania wody do wnętrza oocytu i nieprawidłowego ich pęcznienia. Po kąpieli w taninie ikrę należy dokładnie przepłukać wodą z wylęgarni i dopiero wtedy można ją umieścić w aparacie inkubacyjnym.

9. Literatura

- Bani A., Banan A. 2010 – Comparison between microsurgery and traditional egg removal from starry sturgeon, *Acipenser stellatus*, broodstock – Journal of the World Aquaculture Society 41: 144-148.
- Conte F.S., Doroshov S.I., Lutes P.B., Strange E.M. 1988 – Hatchery manual for the white sturgeon *Acipenser transmontanus* R. with application to other North American Acipenseridae – Div. Agric. Nat. Res., University of California, Oakland.
- Falahatkar B., Akhavan, S.R., Tolouei Gilani M.H., Abbasalizadeh A. 2013 – Sex identification and sexual maturity stages in farmed great sturgeon, *Huso huso* L. through biopsy – Iranian Journal of Veterinary Research 14: 133-139.
- Feist G., Van Eenennaam J.P., Doroshov S.I., Schreck C.B., Schneider R.P., Fitzpatrick M.S. 2004 – Early identification of sex in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus* using plasma steroid levels – Aquaculture 232: 581-590.
- Ginsburg A. S. 1968 – Oplodotvorenije u ryb i problema polispermii – Izdz. Nauka, Moskwa.
- Horváth L., Péteri A., Kouril J. 1986 – Successful sterlet, *Acipenser ruthenus* L., propagation with synthetic LH-RH hormone – Aquaculture Research 17: 113 - 116.
- Hurvitz A., Jackson K., Degani G., Levavi-Sivan B. 2007 – Use of endoscopy for gender and ovarian stage determinations in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in aquaculture – Aquaculture 270: 158-166.
- Judycka S., Szczepkowski M., Ciereszko A., Słowińska M., Bodek G., Dietrich G.J. 2015 – Characterization of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt 1869) sperm obtained out of season – Journal of Applied Ichthyology 31: 34-40.

- Kazanski B.N., Feklow J.A., Podushka S.B., Molodtsov A.N. 1978 – Szybka metoda określania stopnia dojrzałości gonad tarlaków jesiotra – Rybn. Khoz. 2: 24-27.
- Kolman R. 2005 – Jesiotry – Wyd. IRS, Olsztyn.
- Kolman R., Szczepkowski M. 2005 – Odklejanie ikry ryb jesiotrowatych w roztworze taniny – W: Rozród, podchów, profilaktyka ryb sumokształtnych i innych gatunków (Red.) Z. Zakęś. Wyd. IRS, Olsztyn: 175-180.
- Moghim M., Vajhi A.R., Veshkini A., Masoudifard M. 2002 – Determination of sex and maturity in *Acipenser stellatus* by using ultrasonography – Journal of Applied Ichthyology 18: 325-328.
- Podushka S.B. 1999 – Poluchenie ikry u osetrovyykh s sokhraneniem zhizni proizvoditeley – Nauch.-Tekhn. Bul. Lab. Ikhtiol. INENKO, St. Petersburg 2: 4-19.
- Szczepkowski M. 2011 – Spontaniczne tarło jesiotra w systemie recyrkulacyjnym – W: Nowe gatunki w akwakulturze - rozród, podchów, profilaktyka (Red.) Z. Zakęś, K. Demska-Zakęś, A. Kowalska. Wyd. IRS, Olsztyn: 35-43.
- Szczepkowski M. 2013 – Praktyczne aspekty sztucznego rozrodu jesiotrów – W: Innowacje w wylęgarnictwie organizmów wodnych (Red.) Z. Zakęś, K. Demska-Zakęś, A. Kowalska. Wyd. IRS Olsztyn: 59-66.
- Szczepkowski M., Kolman R. 2011 – A simple method for collecting sturgeon eggs using a catheter – Archives of Polish Fisheries 19: 123-128.
- Szczepkowski M., Kolman R., Szczepkowska B. 2015 – Impact of feed ration on growth and the results of sterlet, *Acipenser ruthenus* L., artificial reproduction – Aquaculture Research 46: 2147-2152.
- Vecsei P., Litvak K., Noakes D.L.G., Rien T., Hochleitner M. 2003 – A noninvasive technique for determining sex of live adult North American sturgeons – Environmental Biology of Fishes 68: 333-338.
- Williot P., Brun T.R., Rouault T., Pelard M., Mercier D., Ludwig A. 2005 – Artificial spawning in cultured sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus* L., with special emphasis on hermaphrodites – Aquaculture 246: 263– 273.