TECHNOLOGIES IN AQUACULTURE / ТЕХНОЛОГІЇ В АКВАКУЛЬТУРІ

Ribogospod. nauka Ukr., 2025; 2(72): 118-135
DOI: https://doi.org/10.61976/fsu2025.02.118
UDC 639.371.15:639.3.03

Received: 27.04.2025
Received in revised form: 23.05.2025
Accepted: 10.06.2025

REPRODUCTIVE PARAMETERS OF EUROPEAN GRAYLING (*THYMALLUS THYMALLUS* LINNAEUS, 1758) ADAPTED TO ARTIFICIAL GROWING CONDITIONS

A. Kucheruk, anna-kycheryk@ukr.net, ORCID ID 0000-0001-6721-1054, Institute of Fisheries of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kyiv
A. Mruk, amruk@ukr.net, ORCID ID 0000-0001-8636-2720, Institute of Fisheries of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kyiv

Purpose. *To investigate reproductive parameters, namely: fecundity, size and weight of eggs, embryo survival to the "eye" stage in firstly and repeatedly spawning groups of third-generation European grayling grown and adapted to artificial conditions.*

Methodology*. The work on the reproduction of European grayling was carried out at the State Institution of Trout Hatchery "Lopushno". Anesthesia of brood fish was carried out with a natural anesthetic - clove oil at the rate of 1 ml/10 L of water. Measurement of length and weight were carried out on live fish. Based on the results of measurements, an analysis of the obtained values was performed and the productive characteristics of brood fish were determined. Fertilization of eggs was carried out by the "semi-dry" method. De-gluing of fertilized eggs was carried out by washing with clean water for two hours.*

Findings*. The average weight of age-2, 3, and 4 European graylings used in spawning was 82.32 g, 126.5.4 g and 238 g with an average length of 20.7 cm, 23.4 cm and 28.2 cm, respectively. The results we obtained from 2019 to 2021 showed that under the conditions of the Lopushno farm, European grayling spawners mature en masse at age-2, with the average weight of two-year-old*

РЕПРОДУКТИВНІ ПОКАЗНИКИ ПЛІДНИКІВ ЄВРОПЕЙСЬКОГО ХАРІУСА (*THYMALLUS THYMALLUS* LINNAEUS, 1758), АДАПТОВАНИХ ДО УМОВ ШТУЧНОГО ВИРОЩУВАННЯ

А. І. Кучерук, anna-kycheryk@ukr.net, ORCID ID 0000-0001-6721-1054, Інститут рибного господарства Національної академії аграрних наук України, м. Київ
А. І. Мрук, amruk@ukr.net, ORCID ID 0000-0001-8636-2720, Інститут рибного господарства Національної академії аграрних наук України, м. Київ

Мета. *Дослідити репродуктивні показники, а саме — плодючість, розмірно-вагові показники ікринок, виживання ембріонів до стадії вічка у вперше- та повторнонерестуючих груп плідників європейського харіуса третьої генерації, вирощених та адаптованих до умов штучного культивування.*

Методика. *Роботи з відтворення європейського харіуса проводили у Державній установі «Рибницький форелевий завод «Лопушно»». Анестезію плідників здійснювали природним анестетиком — гвоздичною олією — із розрахунку 1 мл/10 л води. Дослідження розмірно-вагових показників проводили на живій рибі. За результатами вимірювань виконано аналіз отриманих показників та визначено продуктивні характеристики плідників. Запліднення ікри здійснювали «напівсухим» методом. Її знеклеювання виконували шляхом промивання чистою водою упродовж двох годин.*

Результати. *Середня маса плідників європейського харіуса у віці дворічок, трирічок та чотирирічок, використаних у нересті, становила 82,32; 126,5,4 та 238,0 г за середньої довжини — 20,7; 23,4 та 28,2 см відповідно. Отримані нами з 2019 по 2021*

females ranging from 65 to 100 g with an average length of 18.0 to 23.5 cm. Ovulation of eggs in first-spawning females occurred without artificial stimulation. The average working fecundity of females was: age-2 – 597 eggs, age-3 – 1309 eggs, age-4 – 2950 eggs. Fertilization of eggs was 50%.

Originality. *A comprehensive analysis of productive and reproductive parameters in third-generation brood European grayling grown in artificial conditions was conducted. A number of factors were identified that may influence the development of high-quality eggs during the creation of broodstocks in controlled conditions of fish farms.*

Practical Value. *The data obtained during the study will be used as the basis for preparing measures for the artificial reproduction of salmonids in the Carpathian region.*

Keywords: *eggs, females, males, length and weight, working and relative fecundity.*

рр. результати показали, що в умовах господарства «Лопушно» плідники європейського харіуса масово дозрівають у 2 роки; середня маса дворічних самиць становила від 65 до 100 г за середньої довжини від 18,0 до 23,5 см. Овуляція ікри у самиць, які нерестували вперше, відбулася без штучної стимуляції. Робоча плодючість самиць у середньому становила, ікринок: у дворічок — 597, трирічок — 1309, чотирічок — 2950. Рівень запліднення складав 50%.

Наукова новизна. *Проведено комплексний аналіз продуктивних та репродуктивних показників у плідників європейського харіуса третьої генерації, вирощених у штучних умовах. Встановлено низку чинників, які можуть впливати на формування якісних статевих продуктів, під час формування маточних стад у контрольованих умовах рибницьких господарств.*

Практична значимість. *Отримані під час дослідження дані будуть покладені в основу підготовки заходів зі штучного відтворення лососеподібних видів риб Карпатського регіону.*

Ключові слова: *ікра, самиці, самці, розмірно-вагові показники, робоча та відносна плодючість.*

PROBLEM STATEMENT AND ANALYSIS OF LAST ACHIEVEMENTS AND PUBLICATIONS

European grayling (*Thymallus thymallus* Linnaeus, 1758) is a valuable species of rheophilic ichthyofauna widely distributed in Central and Northern Europe, the existence of which depends on excellent water quality with low temperature and high dissolved oxygen content.

Deterioration of the aquatic environment, reduction of water quality, changes in river morphology and flow regime, destruction of spawning grounds, and overfishing have significantly reduced grayling populations in most European water bodies [8–10, 20]. Due to a decrease in abundances throughout its range of distribution, the European grayling is included in the list of protected species in Appendix

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Харіус європейський *(Thymallus thymallus* Linnaeus, 1758) — цінний вид реофільної іхтіофауни, широко розповсюджений у Центральній та Північній Європі, існування якого залежить від води відмінної якості з низькою температурою та високим вмістом розчиненого у ній кисню.

Погіршення водного довкілля, зниження якості води, зміна морфології річок та режиму течії, руйнування нерестовищ, надмірний вилов репродуктивного ядра значно зменшили популяції харіуса у більшості європейських водойм [8–10, 20]. Через зменшення чисельності у всьому ареалі існування європейський харіус включений до списку видів, що охороняються, у Додатку

III of the Bern Convention. Preservation of the biodiversity of the fauna of natural watercourses is currently an important task of environmental organizations. One of the population conservation measures commonly used for salmonids, including European grayling, is the stocking of water bodies with juveniles reared in artificial conditions [12–14].

Experience with stocking natural watercourses with fish seeds reared in controlled conditions of fish farms does not always demonstrate the expected positive result, as a result of which it can be concluded that juveniles reared in artificial conditions usually have a lower adaptation to the natural environment than juveniles from natural populations. Understanding this issue is a key aspect to the development of conditions that optimize the survival and adaptation of juveniles after release, as well as to the awareness of the limitations of what can be achieved by changing rearing methods in artificial conditions [15].

Fish are generally highly plastic in their development, and through the interaction of genes and environment, epigenetics and maternal influences, their phenotypes will develop differently depending on the rearing conditions. This suggests that there are opportunities to modify traditional rearing techniques to prepare fish for release into the wild. The challenge, therefore, is to identify key modifications to the artificial rearing environment that are practical and economically feasible and that will effectively promote development towards a wilder phenotype [14, 18].

Reproduction of European grayling in artificial conditions has proven to be difficult due to a number of factors that affect its survival (water quality, temperature, feeding, stocking density, creation of a replacement broodstock, etc.). One of the important stages of artificial cultivation is early ontogenesis: incubation, incubation

III Бернської конвенції. Збереження біорізноманіття фауни природних водотоків на сьогодні є важливим завданням природоохоронних організацій. Одним із заходів збереження популяції, який зазвичай використовується для лососеподібних видів риб, у тому числі й європейського харіуса, є зарибнення материнських водойм молоддю, вирощеною у штучних умовах [12–14].

Досвід зарибнення природних водотоків рибопосадковим матеріалом, вирощеним у контрольованих умовах рибницьких господарств, не завжди демонструє очікуваний позитивний результат, внаслідок чого можна зробити висновок: молодь, яка вирощена у штучних умовах, зазвичай має нижчу пристосованість до природного довкілля, ніж молодь з природних популяцій. Розуміння цього питання є ключовим аспектом до розробки умов, які оптимізують виживаність та адаптацію молоді після випуску, а також до усвідомлення обмежень того, чого можна досягти, змінюючи методи вирощування у штучних умовах [15].

Риби, як правило, дуже пластичні у своєму розвитку, і через взаємодію генів та умов довкілля, епігенетичний та материнський вплив, їх фенотипи розвиватимуться по-різному, залежно від умов вирощування. Це свідчить про існування можливості для модифікації традиційних технологій вирощування, щоб підготувати риб до випуску у дику природу. Отже, насправді завдання полягає у визначенні ключових модифікацій штучного середовища вирощування, які є практично та економічно доцільними, та які ефективно сприятимуть розвитку до більш дикого фенотипу [14, 18].

Відтворення європейського харіуса у штучних умовах виявилося складним через низку чинників, які впливають на його виживання (якість води, тем-

of free embryos, transition to mixed and external nutrition of juveniles [12, 19].

HIGHLIGHT OF THE EARLIER UNRESOLVED PARTS OF THE GENERAL PROBLEM. AIM OF THE STUDY

Factors that influence the fecundity and survival of European grayling, compared to other salmonids, are not well understood, because this species is not used for commercial production [9, 10]. The main factors that influence reproductive performance and embryo development are the age and size of the female, the feeding regime of the fry, the size of the eggs, the chemical composition of the water, and genetics. In particular, there is a dependence on the individual characteristics of individuals and populations on their physiological state and on environmental conditions (quantity and quality of food, water temperature, flow regime [6, 7, 13]. Embryo development, growth and development of juvenile fish are significantly influenced by maternal factors, namely: the size of eggs, which indicates the presence of a sufficient amount of nutrients in the eggs, which is closely related to the feeding of fry [16, 17]. Egg size is also a significant factor of maternal variability, which affects the peculiarities of the early period of grayling life [15–17]. Effective reproduction, rearing of larvae, fry and their further growth, development and health are the main requirements for successful fish farming, both for the purpose of commercial production and for reintroduction in order to preserve valuable and endangered fish species [10]. The quality of eggs depends on management methods breeding stock using knowledge of the nutritional and environmental

пература, годівля, щільність посадки, формування ремонтно-маточного стада тощо). Одним із важливих етапів штучного вирощування є ранній онтогенез: інкубація, витримування вільних ембріонів, перехід на змішане та зовнішнє живлення молоді [12, 19].

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

Чинники, які впливають на плодючість та виживаність європейського харіуса, порівняно з іншими лососевими, недостатньо вивчені, оскільки об'єкт не є представником товарного виробництва [9, 10]. Основними факторами, які здійснюють вплив на репродуктивність та розвиток ембріона, є вік та розмір самиці, режим годівлі плідників, розмір ікринки, хімічний склад води, генетика. Зокрема, відмічена залежність від індивідуальних характеристик особин та популяцій, від їх фізіологічного стану та від умов довкілля (кількості та якості їжі, температури води, режиму течії) [6, 7, 13]. На розвиток ембріона, ріст та розвиток молоді риби суттєво впливають материнські фактори — розмір ікринок, який свідчить про наявність в ікринці достатньої кількості поживних речовин, що тісно пов'язано з годівлею плідників [16, 17]. Розмір ікринки також є значущим фактором материнської мінливості, який впливає на особливості раннього періоду життя харіуса [15–17]. Ефективне розмноження, вирощування личинок, мальків та їх подальший ріст, розвиток та здоров'я є основною вимогою для успішного розведення риби, як з метою товарного виробництва, так і для реінтродукції з метою збереження цінних та зникаючих видів риб [10]. Якість ікринок залежить від методів управління племінним поголів'ям з використанням знань щодо харчових та екологічних потреб окремих видів риб.

ronmental needs of individual fish species.

As mentioned above, the quality of eggs is determined by the availability of nutrients from the female, so it is extremely important to optimize the nutrition of broodstock [16, 17]. However, for some species, including grayling, knowledge of nutritional needs and the importance of broodstock nutrition for reproductive function and quality of eggs and, consequently, larvae is very limited, which can lead to low productivity of grayling grown in artificial conditions [10, 11]. Therefore, the aim of this study was to determine the reproductive performance of grayling broodstock, such as fecundity, size and weight characteristics of eggs and embryo survival to the stage of "eye" of the firstly and repeatedly spawning females of the third generation adapted to artificial conditions with improved feeding regime. In many cultured fish species, especially new to aquaculture, unpredictable and variable reproductive capacity is a limiting factor for successful massive production of juveniles. It is known that optimizing the feeding of broodstock significantly increases not only the qualitative characteristics of eggs, but also sperm. The development of the gonads and the fertility of fish are influenced by certain food and nutritional components, especially in fish with continuous spawning with short vitellogenesis [2, 3].

Як було зазначено вище, якість ікринок визначається наявністю у них поживних речовин, які надходять від самиці, тому надзвичайно важливо оптимізувати живлення плідників [16, 17]. Однак, для деяких видів, включно з харіусом, знання про потреби у живленні та важливість живлення маточного поголів'я для репродуктивної функції та якості ікринок і, як наслідок, личинок, дуже обмежені, що може призвести до низької продуктивності харіуса, вирощеного у штучних умовах [10, 11].

У багатьох культивованих видів риб, особливо нових для аквакультури, непередбачувана та мінлива репродуктивна здатність є обмежувальним фактором для успішного масового виробництва молоді. Відомо, що оптимізація годівлі плідників значно підвищує не лише якісні характеристики ікринок, а й спермиїв. На розвиток статевих залоз та плодючість риб впливають певні харчові та поживні компоненти, особливо у риб з безперервним нерестом з коротким вітелогенезом [2, 3].

Отже, метою даного дослідження було визначення репродуктивних показників, таких як плодючість, розмірно-вагові характеристики ікринок та виживання ембріонів до стадії вічка, вперше- та повторнонерестуючих плідників третьої генерації, адаптованих до штучних умов за удосконалення режиму годівлі.

MATERIALS AND METHODS

The work on the reproduction of European grayling was carried out at the State Institution of Trout Hatchery "Lopushno", located in the village of Lopushna, Vyzhnetsk district, Chernivtsi region. This region has a moderately warm climate with relatively high air humidity and noticeable differences in the microclimate of mountain valleys. The main direction of the farm's work is the reproduction of of

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Роботи з відтворення європейського харіуса проводилися у Державній установі «Рибницький форелевий завод «Лопушно»», розташованій у с. Лопушна Вижнецького району Чернівецької області. В даному регіоні помірно теплий клімат з відносно високою вологістю повітря та помітними відмінностями у мікрокліматі гірських долин.

salmonids for their subsequent stocking in water bodies of national importance in the Carpathian region of Ukraine with viable juveniles in order to maintain a sustainable biocenosis.

The farm's production capacity consists of 4,256 m^2 of fattening ponds and 216 m^2 of nursery tanks. The farm's water supply comes from an artesian well.

Selection of sexual products from breeders of the 3rd generation grown in artificial conditions was carried out - 04.25.2021 at a water temperature of 8ºC. The cultivation of breeders was carried out in a pool with an area of 4.5 m^2. The fish were fed exclusively with live food (chironomids - bloodworms). Egg ovulation in first-time spawning females and males occurred without stimulation. In mature males, after light pressure on the abdomen, "flowing" of milk was observed, and in females, ovulated eggs flowed freely. The method of obtaining sexual products during life was used. To avoid traumatization of the broodstock and ease of work, an anesthetic substance of natural origin was used (clove oil, concentration 1 ml/10 L of water) [3, 4].

Anesthesia of fish listed in the Red Book is a mandatory condition, since individuals of European grayling are prone to traumatization. In particular, stress caused by fish farming activities reduces the immune properties of fish, which is manifested in their weakening and the appearance of secondary diseases in the form of saprolegniosis, fish refusal of feed and, as a result, their increased mortality [2, 4].

The study was conducted on live fish according to the main exterior parameters: body weight (W), fork length (FL), standard length (SL), trunk length (TL), head length (HL), largest (H), and smallest body height (h), largest (G), and smallest body girth (g). Measurements were performed with a measuring tape with an accuracy of 0.5 mm. Individual weighing was carried

Основний напрямок роботи господарства — культивування водних живих ресурсів, а саме — відтворення та вирощування лососевих видів риб для подальшого зарибнення водних об'єктів загальнодержавного значення Карпатського регіону України життєстійкою молоддю, з метою підтримання сталого біоценозу.

Структура виробничої потужності господарства становить 4256 $м^2$ нагульних ставів та 216 $м^2$ вирощувальних басейнів. Водопостачання у господарстві відбувається за рахунок артезіанської свердловини.

Відбір статевих продуктів від плідників 3-ї генерації, вирощеної у штучних умовах, здійснили 25.04.2021 р. за температури води 8ºС. Вирощування плідників здійснювали в басейні площею 4,5 $м^2$. Годівлю риб проводили виключно живими кормами (хірономіди). Овуляція ікри у самиць, що нерестували вперше, та дозрівання самців відбулися без стимулювання. У зрілих самців після легкого натискання на черевце спостерігали «текучість» молок, у самиць вільно витікали овульовані ікринки. Застосовували метод прижиттєвого отримання статевих продуктів. Для уникнення травматизації плідників та зручності роботи використовували анестезувальну речовину натурального походження (гвоздичну олію за концентрації 1 мл/10 л води) [3, 4].

Анестезія плідників, що внесені до Червоної книги. є обов'язковою умовою, оскільки особини європейського харіуса схильні до травматизації [2, 4].

Дослідження проводили на живій рибі за основними екстер'єрними показниками: маса тіла (m), довжина за Смітом (L), довжина без хвостового плавця (l), довжина тулуба (l_t), довжина голови (l_h), найбільша (H) та найменша (h) висота тіла, найбільший (O) та найменший (o) обхват тіла. Проміри прово-

out on electronic commercial scales with an accuracy of 0.1 mg.

Based on the measurement results, the productive characteristics of the brood fish were analysed and determined: working and relative fertility. Working fecundity is the number of mature eggs obtained from one female for artificial insemination. Relative fecundity is the number of eggs per unit mass of the female.

The eggs and sperm of brood fish were collected into separate containers, the quality of the eggs (by uniform size and color) was visually assessed, the quality of the sperm was determined under a microscope by the duration of mobility in seconds. The fertilization of the eggs was carried out by the "semi-dry" method. The de-gluing of the fertilized eggs was carried out by washing with clean water for two hours. Horizontal apparatuses for salmonids, such as Schuster's, were used for incubation of eggs. Complete water exchange in the incubation apparatus took place within 20 minutes. The eggs were incubated in a darkened place, maintaining the water temperature at 10–12°C. The water supply to the incubation department comes from an artesian well.

From the variational statistical values, the minimum, maximum and average values of parameters (M), standard error (m), standard deviation (σ), and the coefficient of variation (Cv) were determined. Statistical data processing was carried out in the MS Excel. According to the measurement results, the productive parameters of the brood fish were determined by the condition factor – $M(g)\times100/Ls^3$ and body length to height ratio – Ls(cm)/H(cm); gonadosomatic index – $Pi(g)\times100/M(kg)$ and reproductive index – Pi(g)/M(kg).

Unfertilized eggs were fixed in 4% formalin solution. Eggs were weighed on an electronic scale "Axis AD 500", third accuracy class. Egg diameter was determined with a ruler with an accuracy of 0.5 mm. Individual weighing was carried out on electronic commercial scales with an accuracy of 0.1 mg.

Based on the measurement results, the productive characteristics of the brood fish were analysed and determined: working and relative fertility. Working fecundity is the number of mature eggs obtained from one female for artificial insemination. Relative fecundity is the number of eggs per unit mass of the female.

The eggs and sperm of brood fish were collected into separate containers, the quality of the eggs (by uniform size and color) was visually assessed, the quality of the sperm was determined under a microscope by the duration of mobility in seconds. The fertilization of the eggs was carried out by the "semi-dry" method. The de-gluing of the fertilized eggs was carried out by washing with clean water for two hours. Horizontal apparatuses for salmonids, such as Schuster's, were used for incubation of eggs. Complete water exchange in the incubation apparatus took place within 20 minutes. The eggs were incubated in a darkened place, maintaining the water temperature at 10–12°C. The water supply to the incubation department comes from an artesian well.

From the variational statistical values, the minimum, maximum and average values of parameters (M), standard error (m), standard deviation (σ), and the coefficient of variation (Cv) were determined. Statistical data processing was carried out in the MS Excel. According to the measurement results, the productive parameters of the brood fish were determined by the condition factor – $M(g)\times100/Ls^3$ and body length to height ratio – Ls(cm)/H(cm); gonadosomatic index – $Pi(g)\times100/M(kg)$ and reproductive index – Pi(g)/M(kg).

Unfertilized eggs were fixed in 4% formalin solution. Eggs were weighed on an electronic scale "Axis AD 500", third accuracy class. Egg diameter was determined with a ruler with an accuracy of 0.5 mm. Individual weighing was carried out on electronic commercial scales with an accuracy of 0.1 mg.

За результатами вимірювань аналізували та визначали продуктивні характеристики плідників: робочу та відносну плодючість. Робоча плодючість — це кількість зрілих ікринок, отримана від однієї самиці для штучного запліднення; відносна плодючість — кількість ікринок, що припадає на одиницю маси самиці.

Ікру та сперму у плідників відціджували в окремі ємності, візуально оцінювали якість ікринок (за рівномірним розміром та кольором); якість сперміїв визначали під мікроскопом за показником тривалість рухливості у секундах. Запліднення ікри здійснювали «напівсухим» методом. Знеклеювання запліднені ікри виконували методом промивання чистою водою упродовж двох годин. Для інкубації ікри застосовували горизонтальні апарати типу Шустера для лососевих риб. Повний водообмін в інкубаційних апаратах відбувався упродовж 20 хв; інкубували ікринки у затемненому місці з дотриманням температури води в межах 10–12°C. Водопостачання інкубаційного цеху відбувалося за рахунок артезіанської свердловини.

Із варіаційно-статистичних значень визначали мінімальне, максимальне та середнє значення показників (M), похибку середньої (m), середнє квадратичне відхилення (σ), коефіцієнт варіації (Cv). Обробку статистичних даних проводили у програмі «Microsoft Excel». За результатами вимірювань визначили продуктивні характеристики плідників за коефіцієнтами вгодованості — $M(г)\times100/Ls^3$, прогонистості — Ls(см)/H(см), гонадосоматичним індексом — $Pi(г)\times100/M(кг)$, а також та індексом репродуктивності — Pi(g)/M(kg).

Незапліднені ікринки фіксували у

mined using calipers with an accuracy of 0.1 mm.

STUDY RESULTS AND THEIR DISCUSSION

According to studies, it is known that during the development and maturation of gonads in European grayling, it is recommended to feed them only with natural feeds. When fed with artificial feeds, the development of gonads, namely eggs, occurs in females, but the eggs are not suitable for fertilization, which is an important aspect of the technological cycle and a factor of influence when growing and adapting this species in artificial conditions. When using artificial feeds for feeding females, a low percentage of fertilization and high mortality of eggs during embryonic development were observed, which reached 95% before the stage of active eye pigmentation. In this regard, when growing a replacement and broodstock of European grayling, it is necessary to take into account the lack of appropriate feed for broodstock, which requires further efforts to improve cultivation methods in order to reproduce and replenish natural populations. According to the many years of experience of the Slovak farm "Slovryba", which is located in the foothills of the High Tatras massif, and annually grows 1.5 million age-1 grayling for stocking Slovak rivers, feeding European grayling with artificial feed occurs only in the first year of life and immediately after spawning, and during the period of active gonad development - spawners feed exclusively

4%-му розчині формаліну. Зважування ікринок проводили на електронних вагах «Axis AD 500» третього класу точності. Діаметр ікри визначали за допомогою штангенциркуля з точністю 0,1 мм. Витримування ікринок під час набрякання та укріплення їх оболонок відбувалось у затемненому місці (з метою уникнення негативної дії світла) у ємності, в якій здійснили запліднення та промивання [2, 4].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Із досліджень відомо, що під час формування та дозрівання статевих продуктів у європейського харіуса його рекомендовано годувати тільки природними кормами. За годівлі штучними кормами формування статевих продуктів, а саме — ікринок у самиць, відбувається, однак ікринки не є придатними до запліднення. Це є важливим аспектом технологічного циклу та фактором впливу при вирощуванні та адаптації даного виду у штучних умовах. За використання штучних кормів для годівлі самиць, у них спостерігали низький відсоток запліднення та високу смертність ікринок під час ембріонального розвитку, яка досягала 95% до стадії активної пігментації очей. У зв'язку з цим, під час вирощування ремонтно-маточного стада європейського харіуса необхідно враховувати відсутність відповідного корму для плідників, що потребує подальших зусиль для вдосконалення методів вирощування з метою відтворення та поповнення природних популяцій. Відповідно до багаторічного досвіду словацького господарства «Словриба», розташованого у передгір'ї масиву Високі Татри, яке вирощує щорічно 1,5 млн екз. цьоголіток харіуса для зарибнення словацьких річок, годівля європейського харіуса штучними кормом відбувається лише на першому році

on natural feed components. Their findings were used in our studies: 7–9 months before spawning, the feeding ration of the grayling replacement stock was changed from artificial to natural feed. Freshly frozen chironomid larvae were used. The conversion of natural feed during the period of growing the broodstock was 6.

An experimental replacement broodstock of the third generation of European grayling was formed at the Lopushno farm. The average weight of the grown brood grayling, which were used in spawning, was 128.7 g and the average length was 23.3 cm. The range of fluctuations in the weight of age-3 males was from 106 g to 148 g, females – from 103 to 149 g; in length: females – from 21.5 to 29.5 cm, males – the range of fluctuations was from 17.8 to 31 cm. Morphological measurements of age-3 males and females of European grayling are presented in Table 1.

The collection of eggs and sperm from the 3rd generation spawners grown in artificial conditions was carried out on April 25, 2021 at a water temperature of 8ºC. Ovulation of eggs in first-spawning females and males occurred without stimulation. In mature males, after light pressure on the abdomen, "fluidity" of milk was observed, and in females, ovulated eggs flowed freely. The volume of ejaculate in grown males was 0.4 mL^3 on average, which was similar to fish from natural populations. The Fulton's condition factor of brood fish of European grayling was 1.1 (Table 2).

Analysis of literature data from research and observations by other scientists showed that for water bodies of various types, under favorable conditions, females of European grayling become sexually mature at age-3 with a body length of about 20–23 cm [16, 17]. The fecundity of first-matured fish is about 1,500 eggs. Males reach sexual maturity later – in the fourth or fifth year of life. However, the

життя та одразу після нересту, а у період активного формування гонад плідники живляться виключно природними кормовими компонентами. У наших дослідженнях були використані їхні напрацювання: за 7–9 місяців до нересту раціон годівлі ремонтного стада харіуса був змінений зі штучного на природний корм. Використовували свіжозаморожених личинок комара — хірономід. Конверсія природного корму за термін вирощування маточного стада складала 6 одиниць.

На господарстві «Лопушно» сформовано експериментальне ремонтно-маточне поголів'я третьої генерації європейського харіуса. Середня маса вирощених плідників харіуса, які були використані у нересті, становила 128,7 г, а середня довжина — 23,3 см. Межі коливань за масою трирічних самців становили від 106 до 148 г, у самиць — від 103 до 149 г; за довжиною — у самиць від 21,5 до 29,5 см, у самців — від 17,8 до 31 см. Морфологічні виміри трирічних самців та самиць європейського харіуса представлені у таблиці 1.

Об'єм еякуляту у вирощених самців в середньому перебував на рівні 0,4 $мл^3$, що був аналогічним такому особин з природних популяцій [3]. Коефіцієнт вгодованості за Фультоном у плідників європейського харіуса становив 1,1 (табл. 2).

Аналіз літературних даних щодо досліджень та спостережень інших вчених засвідчив, що для водойм різного типу за сприятливих умов самиці європейського харіуса стають статевозрілими у віці трьох років, за довжини тіла близько 20–23 см [16, 17]. Плодючість у риб, що дозрівають вперше, становить близько 1500 ікринок. Самці досягають статевої зрілості пізніше — на четвертому–п'ятому роках життя. Однак, дані, отримані нами з 2019 по 2021 рр., показали, що в умовах господарства «Лопушно» самиці європейського харіуса масово

Table 1. **Morphological characteristics of age-3 European grayling**

Sex	Parameters	Weight (W). g	Body length (Ls). cm	Body length without L. (C) cm	Head length (L). cm	Girth. (G). cm	Index		
							Head	Condition factor	Body girth
Females (n=15)	M	127.5	23.1	22	3.1	9.6	5.2	1.2	5.2
	m	4.9	0.49	0.48	0.16	0.2	0.2	0.06	0.2
	δ	13.2	1.3	1.2	0.4	0.6	0.5	0.18	0.5
	Cv	3.9	2.1	2.2	5.0	2.5	4.2	5.5	4.2
	max	149	25.5	22.5	4	10.5	5.7	0.9	6
	min	103	21	19.5	2.6	9	4.5	1.6	4.5
Males (n=20)	M	123.3	23.4	21.9	3.3	9.4	5.3	1.1	5.3
	m	5.8	0.6	0.5	0.2	0.2	0.1	0.0	0.1
	δ	16.6	1.8	1.6	0.6	0.7	0.4	0.1	0.4
	Cv	13.5	7.7	7.4	11.6	0.8	8.3	11.3	8.3
	max	148	27	25	2	10.5	6	1.4	6
	min	106	20.5	21	4	8.2	4.7	0.9	4.7

Table 2. **Characteristics of European grayling males. State Enterprise "Lopushno". 2021**

Statistical parameter	Body weight (W). g	Body length (L). cm	Max body height (H). mm	Min body height (h). mm
Age-2 (n=7)				
(M±m)	82.3±5.0	20.5±0.6	38.0±0.2	12.7±0.1
δ	12.4	1.5	0.4	20.3
Cv	15.5	7.2	12.8	28
Condition factor – 1.1				
Age-3 (n=9)				
(M±m)	123.3±5.8	23.4±0.6	44.0±0.18	13.5±0.08
δ	16.6	1.8	0.5	0.2
Cv	13.5	7.7	11.6	17.3
Condition factor – 1.1				
Age-4 (n=5)				
(M±m)	216.2±28.2	28.6±0.9	15.5±0.10	5.2±0.11
δ	56.5	1.8	0.2	0.2
Cv	13.0	3.2	6.7	2.1
Condition factor – 1.1				

data obtained in 2019 to 2021 showed that in the conditions of the Lopushno hatchery, the majority of European grayling females became at age-2, and the average weight of age-2 females was from 65 to 100 g with

дозрівають у 2 роки; середня маса дворічних самиць становила від 65 до 100 г за середньої довжини 18,0 до 23,5 см.

Робоча плодючість самиць у середньому становила 1470,5 ікринок. За-

an average length of 18.0 to 23.5 cm, respectively.

The average working fecundity of females was 1470.5 eggs. The fertilization of eggs was 50%. In our study, a natural difference in the number of eggs was observed between first- and repeatedly-spawning females, with the following growth trend: the average working fecundity of age-2 fish was 597, age-3 – 1309, age-4 – 2950 eggs (Table 3).

In comparison of our data with studies by foreign scientists [22, 23], the relative fecundity of European grayling was significantly higher in older age groups than in first-spawning fish. The fecundity did not differ significantly between individual fish, probably due to stable environmental conditions and management factors. Unstable external factors, such as sharp fluctuations in temperature, can affect fish size, fecundity, fertilization rate and embryo survival. Under the conditions of rearing the grayling broodstock at the State Enterprise Lopushno hatchery, annual temperature fluctuations ranging from 3 to 20ºC are observed.

плідненння ікринок складало 50%. У нашому дослідженні спостерігалася закономірна різниця у кількості ікринок між самицями, які вперше та повторно нерестують, причому тенденція зростання була наступною: у дворічних особин середня робоча плодючість складала 597, у трирічок — 1309, у чотирирічних самиць — 2950 ікринок (табл. 3).

За порівняння наших даних з дослідженнями закордонних науковців [22, 23], відносна плодючість європейського харіуса була значно вищою у старших вікових групах, у порівнянні з вперше нерестуючими. Плідники не мали істотної різниці між індивідуальними показниками особин, ймовірно, через стабільні умови довкілля та фактори управління. Нестабільні зовнішні чинники, такі як різкі коливання температури, можуть впливати на розмір риби, плодючість, коефіцієнт запліднення та виживання ембріонів [16]. За умов вирощування маточного стада харіуса в ДУ «Лопушно» спостерігаються річні температурні коливання від 3 до 20ºC.

Table 3. **Productive and biological characteristics of domesticated females of European grayling**

№	Fish weight (W), r	Egg weight, g	Fecundity, eggs		Egg parameters		GSI, %*	PI**
			working	relative	weight, mg	diameter, mm		
Age-2 (n=7)								
M	89,7	6,6	597	6628	11,8	1,7	7,4	74
m	3,1	0,22	92,5	224,4	0,03	0,03	0,1	1,9
δ	7,7	0,5	37	549,8	0,07	0,08	0,4	4,7
Cv	8,6	8,2	15,4	8,2	0,6	5,03	6,3	6,3
Age-3 (n=8)								
M	127,5	10,2	1309	10275	14,01	2,35	8,1	82,6
m	4,9	0,2	146,3	214,5	0,06	0,05	0,3	3,7
δ	13,2	0,56	55,3	567,5	0,16	0,14	0,9	9,9
Cv	3,9	5,5	11,0	5,5	1,7	9,57	12,1	12,1
Age-4 (n=5)								
M	226,4	13	2950	13000	14,2	2,4	5,9	59,7
m	28,2	0,9	417	935	0,02	0,02	0,7	7,0
δ	56,4	18	835	1870	0,05	0,05	1,4	14,0
Cv	24,9	14,3	28,3	14,3	0,3	2,2	23,4	23,4

Note. *GSI – gonadosomatic index, %; **IP – reproductivity index, g/kg.

In repeatedly spawning older females, the egg diameter was 2.4 mm compared to 1.7 mm in first-time spawners. The totality of our results indicates that larger females that repeatedly spawned, as a rule, had a higher fecundity index and a larger average egg weight (Table 3).

The reproductive parameters of age-3 females reared in artificial conditions was high: the range of fluctuations in working fecundity was from 1030 to 1402 eggs. It is known that the fecundity of grayling varies both at the population and individual levels, while the relative fecundity, according to other scientists [17], is from 3500 to 31000 eggs per kg of body weight. According to the results of the work, the average relative fecundity was 10 thousand eggs, which is normal for European grayling. Unfortunately, reports on the reproduction parameters of grayling reared in artificial conditions are few, mostly low fecundity is reported.

The duration of embryogenesis at a water temperature of 8–12°C lasted 18–23 days, which was 200 degree-days. The fertilization of eggs was 50%.

The eggs were kept in a darkened place (to avoid the negative effects of light) in the container in which fertilization and washing were performed. The process of egg swelling lasted for two hours. During this period, complex biochemical processes take place in the egg, which strengthen the outer shell of the egg, and the development of the perivitelline space occurs, which persists until hatching [2]. After two hours, the egg weight and diameter increase by 154 and 58%, respectively.

Research results on other fish species indicate that the characteristics of the offspring are significantly influenced by the conditions of keeping the broodstock, which in turn are influenced by the environment and feeding. The main problem with artificial reproduction of European grayling is the high mortality during em-

У старших самиць, які нерестували повторно, діаметр ікринки складав 2,4 мм, проти впершенерестуючих — 1,7 мм. Сукупність отриманих нами результатів вказує на те, що більші самиці, які нерестували повторно, як правило, мали вищий показник плодючості та більшу середню масу ікринок (див. табл. 3).

Репродуктивні показники трирічних самиць, вирощених у штучних умовах, мали високий результат: межі коливань робочої плодючості складали від 1030 до 1402 ікринок. Відомо, що плодючість харіуса варіюється як на популяційному, так і на індивідуальному рівні; при цьому відносна плодючість, за даними інших вчених [17], становить від 3,5 до 31,0 тис. ікринок на кг маси тіла. За результатам роботи, середня відносна плодючість складала 10 тис. ікринок, що є закономірним для європейського харіуса. На жаль, звіти щодо параметрів відтворення харіуса, вирощеного у штучних умовах, є нечисленними [16].

Тривалість ембріогенезу за температури води 8–12°C становила — 18–23 доби, що складало 200 градусо-днів. Запліднення ікринок встановлено на рівні 50%.

Процес набрякання ікринок тривав упродовж двох годин. У цей період в ікринці відбуваються складні біохімічні процеси, які зміцнюють зовнішню оболонку ікринки, з утворенням перивітелінового простору, який зберігається до викльову [2]. Через дві години маса та діаметр ікринок зростають на 154 та 58% відповідно.

Результати досліджень щодо інших видів риб свідчать, що на характеристики потомства істотно впливають умови утримання плідників, на які, у свою чергу, чинять вплив навколишнє середовище та годівля. Основною проблемою штучного відворення європейського харіуса є висока смертність під час розвитку ембріонів до стадії вічка [16].

bryo development to the eye stage [16].

In addition to the age and total length of grayling females reared in artificial conditions, many other factors influence the reproductive rate, which requires further identification of the most problematic phases of reproduction.

CONCLUSION AND PERSPECTIVES OF FURTHER DEVELOPMENT

Salmonids are an important element of global aquaculture, which requires the support of populations that are under threat of extinction, including the European grayling, which is listed in the Red Book of Ukraine. Today, despite the improvement of environmental conditions, the situation regarding the vulnerability of the species has not changed significantly. A decrease in the number of natural populations of grayling and other rheophilic fish species has led to the need for their protection. Protection is one of the main approaches to reducing the risk of extinction of grayling populations. Thus, the risk of further reduction of grayling populations is reduced. However, replenishing natural populations with juveniles grown in artificial conditions remains an equally important, and sometimes indispensable measure today. This requires the cultivation of broodstock, optimization of breeding methods and grayling cultivation on specialized fish hatcheries.

The average weight and length of the third generation brood grayling grown in artificial conditions and used in spawning were 128.7 g and 23.3 cm, respectively. The range of fluctuations of weights of males was from 80 g to 302 g, that of females – from 66 to 298 g; length: for males – from 17.8 to 31 cm, for females – from 21.5 to 29.5 cm, respectively.

The average working fecundity in age-2 females was – 597 eggs, age-3 females – 1309 eggs, age-4 females – 2950 eggs.

Окрім віку та загальної довжини самиць харіуса, вирощених у штучних умовах, на показник репродуктивності впливає багато інших чинників, що потребує подальшого визначення найпроблемніших фаз розмноження.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Лососеві риби є важливим елементом світової аквакультури, і потребують підтримання популяцій, що знаходяться під загрозою зникнення, включно з європейським харіусом, який занесений до Червоної книги України. На сьогодні, попри покращення умов довкілля, ситуація щодо вразливості виду суттєво не змінилася. Зменшення кількості природних популяцій харіуса та інших видів реофільних риб призвело до необхідності їх захисту. Останній є одним із головних підходів до зниження ризику зникнення популяцій харіуса. Однак, поповнення природних популяцій молоддю, вирощеною у штучних умовах, на сьогодні залишається не менш важливим, а іноді незамінним заходом. Це потребує вирощування маточних стад, оптимізації методів розведення та вирощування харіуса в спеціалізованих рибних господарствах.

Визначені нами середні показники маси та довжини плідників харіуса третьої генерації, які були вирощені у штучних умовах та використані у нересті, становили 128,7 г та 23,3 см відповідно. Межі коливань за масою у самців складали від 80 до 302 г, у самиць — від 66 до 298 г; за довжиною — у самців — від 17,8 до 31,0 см, у самиць — від 21,5 до 29,5 см.

Середня робоча плодючість у дворічних самиць становила 597 ікринок, у трирічок — 1309, у чотирирічок — 2950. Відносна плодючість європейського харіуса виявилася значно вищою

The relative fecundity of European grayling was significantly higher in older age groups than in first-spawning ones.

In order to improve the quality of eggs and sperm during artificial reproduction of European grayling, it is necessary to optimize and adjust the composition of feeds and feeding regimen to ensure its maximum similarity to natural food. In particular, larger and repeatedly spawning females should be used for reproduction, since their reproductive performance and survival rate in the early stages of ontogenesis were higher, compared to individuals spawning for the first time.

CONFLICT OF INTEREST

There is no conflict of interest in this work.

SOURCES OF FUNDING

The results obtained are part of the scientific research program of the NAAS for 2021–2023: 32.00.00.15. Development of scientific foundations for the formation of domesticated replacemnt and broodstocks of salmonids with increased productivity to preserve the species diversity of ichthyocenoses of the river network of the Western region of Ukraine (SR No. 0121U108916). 2021–2023: 32.00.00.15 Development of technologies for reproduction and cultivation of viable juveniles of rare and endangered species of salmonids to preserve the gene pool and increase the abundance of populations in the ichthyofauna of Ukraine (SR No. 0124U002391).

REFERENCES

1. Kucheruk, A. I., Mruk, A. I., & Buzevych, I. Yu. (2018). Formuvannia remontno-matochnoho stada ta vidtvorennia yevropeiskoho khariusa *Thymallus thymallus* (Linnaeus) u shtuchnykh umovakh. *Rybohospodarska nauka*

у старших вікових групах, порівняно з впершенерестуючими.

З метою покращення якості статевих продуктів за штучного відтворення європейського харіуса, необхідна оптимізація та коригування складу кормів та режиму годівлі, щоб забезпечити їх максимальну подібність до природної їжі. Зокрема, для розмноження слід використовувати більших за масою самиць, які нерестують повторно, оскільки їх репродуктивні показники та виживаність на ранніх етапах онтогенезу були вищими, ніж такі у особин, які нерестують вперше.

КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

У цій роботі конфлікт інтересів авторів відсутній.

ДЖЕРЕЛА ФІНАНСУВАННЯ

Отримані результати є складовою програми наукових досліджень НААН на 2021–2023 рр.: 32.00.00.15. «Розроблення наукових основ формування доместикованих ремонтно-маточних стад лососевих риб з підвищеною продуктивністю для збереження видового різноманіття іхтіоценозів річкової мережі Західного регіону України» (ДР № 0121U108916); 2021–2023 рр.: 32.00.00.15 «Розроблення технологій відтворення та вирощування життєстійкої молоді рідкісних і зникаючих видів риб ряду лососеподібних для збереження генофонду та збільшення чисельності популяцій в іхтіофауні України» (ДР № 0124U002391).

ЛІТЕРАТУРА

1. Кучерук А. І., Мрук А. І., Бузевич І. Ю. Формування ремонтно-маточного стада та відворення європейського харіуса (*Thymallus thymallus* L.) у штучниїх умовах // Рибогосподарська наука України. 2018. № 3.

Ukrainy, 3. https://doi.org/10.15407/fsu2018.03.028.

2. Kucheruk, A. I., & Mruk, A. I. (2022). Tekhnolohichni osoblyvosti shtuchnoho vidtvorennia yevropeiskoho khariusa. *Suchasni problemy ratsionalnoho vykorystannia vodnykh bioresursiv: IV Mizhnarodna naukovo-praktychna konferentsiia, m. Kyiv, 26–27 hrudnia 2022 r.: zbirnyk materialiv.* Kyiv: PRO FORMAT.
3. Mruk, A. I., Velykopolskyi, I. Y., & Ustych, V. I. (2012). Yevropeiskyi kharius baseinu richky Tereblia ta aspekty yoho shtuchnoho vidtvorennia. *Rybohospodarska nauka Ukrainy, 1,* 53-60.
4. Kucheruk, A. I., Mruk, A. I., & Stratii, K. M. (Comp.). (2023). Metodychni rekomendatsii zi shtuchnoho vidtvorennia lososevykh ryb. Kyiv: Instytut rybnoho hospodarstva NAAN.
5. Kucheruk, A. I., & Mruk, A. I. (2023). Tekhnolohichna instruktsiia formuvannia domestykovanykh remontno-matochnykh stad lososevykh ryb vumovakh ryborozplidnykiv (na prykladi DU «Rybovodnyi forelevyi zavod «Lopushno»»). Kyiv: Instytut rybnoho hospodarstva NAAN.
6. Sävilammi, T., Papakostas, S., Leder, E. H., Vøllestad, L. A., Debes, P. V., & Primmer, C. R. (2021). Cytosine methyation patterns suggest a role of methylation in plastic and adaptive responses to temperature in European grayling (*Thymallus thymallus*) populations. *Epigenetics, 16(3),* 271-288. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1254/1/012093.
7. Sundt, H., Alfredsen, K., Museth, J., & Forseth, T. (2022). Combining green LiDAR bathymetry, aerial images and telemetry data to derive mesoscale habitat characteristics for European grayling and brown trout in a Norwegian river. *Hydrobiologia, 849(2),* 509-525. https://doi.org/10.1007/s10750-021-04639-1.
8. Dadras, H., Dadras, F., Imentai, A., Mal-

C. 28—38. https://doi.org/10.15407/fsu2018.03.028.

2. Кучерук А. І., Мрук А. І. Технологічні особливості штучного відтворення європейського харіуса // Сучасні проблеми раціонального використання водних біоресурсів: IV Міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 26-27 груд. 2022 р. : збірник матер. Київ : ПРОФОРМАТ, 2022. С. 80—82.
3. Мрук А. І., Великопольський І. Й., Устич В. І. Європейський харіус басейну р. Теребля та аспекти його штучного відтворення // Рибогосподарська наука України. 2012. № 1. С. 53—60.
4. Методичні рекомендації зі штучного відтворення лососевих риб / авт.-упор. Кучерук А. І., Мрук А. І., Стратій К. М. Київ : Інститут рибного господарства НААН, 2023. 20 с.
5. Технологічна інструкція формування доместикованих ремонтно-маточних стад лососевих риб в умовах риборозплідників (на прикладі ДУ «Рибоводний форелевий завод “Лопушно”») / авт.-упор. Кучерук А. І., Мрук А. І. Київ : Інститут рибного господарства НААН, 2023. 21 с.
6. Cytosine methylation patterns suggest a role of methylation in plastic and adaptive responses to temperature in European grayling (*Thymallus thymallus*) populations / Sävilammi T. et al. // Epigenetics. 2021. Vol. 16(3). P. 271—288. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1254/1/012093.
7. Combining green LiDAR bathymetry, aerial images and telemetry data to derive mesoscale habitat characteristics for European grayling and brown trout in a Norwegian river / Sundt H. et al. // Hydrobiologia. 2022. Vol. 849(2). P. 509—525. https://doi.org/10.1007/s10750-021-04639-1.
8. Fine ultrastructural features of germ cells and spermatozoa during spermatogenesis in the European grayling, *Thymallus*

inovskyi, O., Pěnka, T., Kolářová, J., & Policar, T. (2023). Fine ultrastructural features of germ cells and spermatozoa during spermatogenesis in the European grayling, *Thymallus thymallus* (Teleostei, Salmoniformes, Salmonidae). *Frontiers in Veterinary Science, 10,* 1188479-1188479. http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2023.1188479.

9. Weiss, S. J., Gonçalves, D. V., Secci-Petretto, G., Englmaier, G. K., Gomes-Dos-Santos, A., Denys, G. P. J., Persat, H., Antonov, A., Hahn, C., Taylor, E. B., & Froufe, E. (2021). Global systematic diversity, range distributions, conservation and taxonomic assessments of graylings (Teleostei: Salmonidae; *Thymallus* spp.). *Organisms Diversity & Evolution, 21(1),* 25-42. https://doi.org/10.1007/s13127-020-00468-7.
10. Szmyt, Mariusz, Piech, Przemysław, Panasiewicz, Grzegorz, Niewiadomski, Piotr, & Pietrzak-Fiećko, Renata. (2021). Gonadal steroid fluctuations and reproduction results of European grayling (*Thymallus thymallus* L.) from broodstock farmed in a recirculation aquaculture system. *Animal Reproduction Science, 224,* 106648. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106648.
11. Bielikova, O., Mruk, A., Kucheruk, A., & Ciampor, Fedor Jr. (2023). Genetic diversity and heterozygosity of European grayling *Thymallus thymallus* (Linnaeus, 1758) from fishery stock in Ukraine. *Aquaculture Europe International Conference & Exposition, Sep 18 – Sep 21: proceed.,* 136-137.
12. Hagelin, A., & Bergman, E. (2021). Competition among juvenile brown trout, grayling, and landlocked atlantic salmon in flumes — predicting effects of interspecific interactions on salmon reintroduction success. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 78(3),* 332-338. https://doi.org/10.1139/cjfas-2020-0155.

thymallus (Teleostei, Salmoniformes, Salmonidae) / Dadras H. et al. // Frontiers in Veterinary Science. 2023. Vol. 10. P. 1188479—1188479. http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2023.1188479.

9. Global systematic diversity, range distributions, conservation and taxonomic assessments of graylings (Teleostei: Salmonidae; *Thymallus* spp.) / Weiss S. J. et al. // Organisms Diversity & Evolution. 2021. Vol. 21(1). P. 25—42. https://doi.org/10.1007/s13127-020-00468-7.
10. Gonadal steroid fluctuations and reproduction results of European grayling (*Thymallus thymallus* L.) from broodstock farmed in a recirculation aquaculture system / Szmyt Mariusz et al. // Animal Reproduction Science. 2021. Vol. 224. 106648. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106648.
11. Genetic diversity and heterozygosity of European grayling *Thymallus thymallus* (Linnaeus, 1758) from fishery stock in Ukraine / Bielikova O. et al. // Aquaculture Europe — 2023 : International Conference & Exposition, Sep 18 — Sep 21, 2023 : proceed. Vienna, 2023. P. 136—137.
12. Hagelin A., Bergman E. Competition among juvenile brown trout, grayling, and landlocked Atlantic salmon in flumes — predicting effects of interspecific interactions on salmon reintroduction success // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 2021. Vol. 78(3). P. 332—338. https://doi.org/10.1139/cjfas-2020-0155.
13. Hauer C., Unfer G. Spawning activ-ity of European grayling (*Thymallus thymallus*) driven by interdaily water temperature variations: Case study gr.mühl River/Austria // River Researchand Applications. 2021. Vol. 37(6). P. 900—906. https://doi.org/10.1002/rra.3816.
14. Influence of geographic origin on post-stocking survival and condition of European grayling (*Thymallus thymal-*

13. Hauer, C., & Unfer, G. (2021). Spawning activity of European grayling (*Thymallus thymallus*) driven by interdaily water temperature variations: Case study gr. mühl River/Austria. *River Research and Applications, 37(6),* 900-906. https://doi.org/10.1002/rra.3816.
14. Turek, J., Zlabek, V., Velísek, J., Lepic, P., Cervený, D., Randak, T., & Richoux, N. (2018). Influence of geographic origin on post-stocking survival and condition of European grayling (*Thymallus thymallus*) in a small river. *Aquatic Living Resources, 31.* https://doi.org/10.1051/alr/201801.
15. Johnsson, J. I., Brockmark, S., & Näslund, J. J. (2014). Environmental effects on behavioural development consequences for fitness of captive-reared fishes in the wild. *Fish Biol., 85(6),* 1946-1971. https://doi.org/10.1111/jfb.12547.
16. Kodela, T., Jesenšek, D., & Sušnik Bajec, S. (2023). Reproduction parameters of hatchery reared grayling (*Thymallus thymallus*) females. *Animal Reproduction Science, 249,* 107196-107196. http://dx.doi.org/10.1080/1828051X.2023.2284368.
17. Kodela, T., Levart, A., & Sušnik Bajec, S. (2023). Comparative biochemical composition of wild and farm origin grayling (*Thymallus thymallus*) eggs. *Italian Journal of Animal Science, 22(1),* 1321-1333. http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.107196.
18. Mruk, A., Kucheruk, A., Bielikova, O., & Čiampor, Jr. F.(2024). Current state of the European grayling (*Thymallus thymallus* L.) in Ukraine and conservation strategy for population support. A review. *Journal for Nature Conservation, 81,* 126676, 1-11. https://doi.org/10.1016/j.jnc.2024.126676.
19. Panasiewicz, P., Niewiadomski, G., Pietrzak-Fie´cko, P. (2021). Gonadal steroid uctuations and reproduction results *lus*) in a small river / Turek J. et al. // Aquatic Living Resources. 2018. Vol. 31. https://doi.org/10.1051/alr/2018019.
15. Johnsson J. I., Brockmark S., Näslund J. J. Environmental effects on behavioural development consequences for fitness of captive-reared fishes in the wild // Fish Biol. 2014. Vol. 85(6). P. 1946—1971. https://doi.org/10.1111/jfb.12547.
16. Kodela T., Levart A., Sušnik Bajec S. Comparative biochemical composition of wild and farm origin grayling (Thymallus thymallus) eggs // Italian Journal of Animal Science. 2023.Vol. 22(1). P. 1321—1333. http://dx.doi.org/10.1080/1828051X.2023.2284368.
17. Kodela T., Jesenšek D., Sušnik Bajec Reproduction parameters of hatchery-reared grayling (*Thymallus thymallus*) females // Animal Reproduction Science. 2023. Vol. 249. P. 107196—107196. http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.107196.
18. Current state of the European grayling (*Thymallus thymallus* L.) in Ukraine and conservation strategy for population support. A review / Mruk A. et al. // Journal for Nature Conservation. 2024. Vol. 81. 126676. P. 1—11. https://doi.org/10.1016/j.jnc.2024.126676.
19. Panasiewicz P., Niewiadomski G., Pietrzak-Fiecko P. Gonadal steroid uctuations and reproduction results of European grayling (*Thymallus thymallus* L.) from broodstock farmed in a recirculation aquaculture system // Anim. Reprod. Sci. 2023. Vol. 224. 106648. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106648.
20. Recapture and condition of pond-reared, and hatchery-reared 1 + European grayling stocked inaddition to wild conspecifics in a small river / Turek J. et al. // Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems. 2012. Vol. 405, iss. 10. https://doi.org/10.1051/kmae/201201.
21. The usage of probiotic microorganisms in production technology of European

of European grayling (*Thymallus thymallus* L.) from broodstock farmed in a recirculation aquaculture system. *Anim. Reprod. Sci., 224,* 106648. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106648.

20. Turek, J., Horký, P., Zlabek, V., Velísek, J., Slavík, O., & Randak, T. (2012). Recaptureand condition of pond-reared, and hatchery-reared 1 + European grayling stocked inaddition to wild conspecifics in a small river. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 405,* 10. https://doi.org/10.1051/kmae/201201.
21. Frunza, O. E., Khuda, L. V., Lazarenko, L. M., Khudyi, O. I., Karpenko, O. V., & Ya Spivak, M. (2023). The usage of probiotic microorganisms in production technology of European grayling fish stock. *IOP Conference Series. Earth and Environmental Science, 1254(1),* 12093. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1254/1/012093.
22. Witkowski, A., Jesior, M., 2000. Fecundity of river lamprey *Lampetra fluviatilis* (L.) in Drweca river (Vistula basin, northern Poland). *Arch. Pol. Fish., 8,* 225-232.
23. Wootton, R. J. (1990). Reproduction. *Ecology of Teleost Fishes.* Netherlands, Dordrecht: Springer, 159-195. https://doi.org/10.1007/978.

grayling fish stock / Frunza O. E. et al. // IOP Conference Series. Earth and Environmental Science. 2023. Vol. 1254(1). P. 12093. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1254/1/012093.

22. Witkowski A., Jesior M. Fecundity of river lamprey *Lampetra fluviatilis* (L.) in Drweca river (Vistula basin, northern Poland) // Arch. Pol. Fish. 2000. Vol. 8. P. 225—232.
23. Wootton R. J. Reproduction // Ecology of Teleost Fishes. Netherlands, Dordrecht : Springer, 1990. P. 159—195. https://doi.org/10.1007/978.