



**XLIV Szkolenie – Konferencja Hodowców Ryb
Łososiowatych
17-18 października 2019, Gdynia**

Sposoby na skuteczne przechowywanie nasienia ryb oraz użycia na skalę produkcyjną w warunkach wylęgarni

Beata I. Cejko, Radosław K. Kowalski

*Zakład Biologii Gamet i Zarodka, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polska Akademia Nauk, Olsztyn*



Unia Europejska
Europejski Fundusz
Morski i Rybacki



Jakość plemników oraz efektywność zapłodnienia

- zmiana temperatury
- wzrost tempa metabolizmu
- wystąpienie stresu oksydacyjnego
- powstawanie wolnych rodników

zmiana stabilności błon komórkowych plemników

zmiana właściwości fizykochemicznych plemników

upośledzenie funkcji plemników

Apoptoza



czas

procesy starzeniowe



brak efektu zapłodnienia

Starzenie się plemników oraz metody kontroli

przechowywanie nasienia w warunkach *in vitro*

Cel

1. Spowolnienie procesów starzeniowych

uszkodzenie błon komórkowych,
degradacja białek,
zużycie ATP,
magazynowanie metabolitów

utrata zdolności do ruchu/zapłodnienia

Kiedy

- brak synchronizacji tarła samic i samców
usprawnienie prac hodowlanych,
zgromadzenie odpowiedniego zapasu nasienia
wykorzystanie nasienia w odpowiednim momencie



Starzenie się plemników oraz metody kontroli

przechowywanie nasienia w warunkach *in vitro*

Cel

2. Poprawa jakości nasienia

zmienność osobnicza,
różna dojrzałość plemników



obniżona zdolności do ruchu/zapłodnienia

Kiedy

- zanieczyszczenie nasienia moczem
- obniżona jakość plemników
 - wzrost ruchliwości plemników,
 - poprawa wartości biologicznej plemników,
 - odbudowa i zmagazynowanie zapasów ATP



Starzenie się plemników oraz metody kontroli

sztuczna plazma nasienia - Artificial Seminal Plasma (ASP)

Fish Physiol Biochem (2018) 44:1435–1442
<https://doi.org/10.1007/s10695-018-0491-3>



Optimisation of sodium and potassium concentrations and pH in the artificial seminal plasma of common carp *Cyprinus carpio* L.

Beata Irena Cejko · Ákos Horváth · Tímea Kollár · Eszter Kása · Jelena Lujčić · Zoran Marinović · Béla Urbányi · Radosław Kajetan Kowalski

Received: 24 November 2017 / Accepted: 7 March 2018 / Published online: 21 March 2018
© The Author(s) 2018

Aquaculture 506 (2019) 224–228

Contents lists available at ScienceDirect

Aquaculture

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aquaculture



ELSEVIER

Short communication

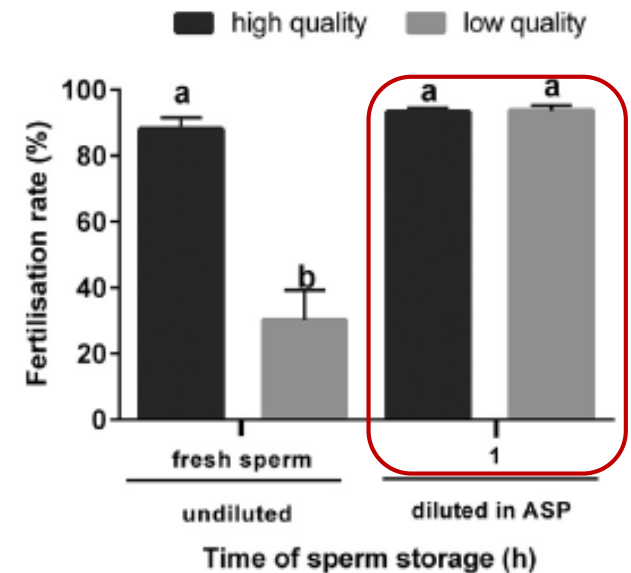
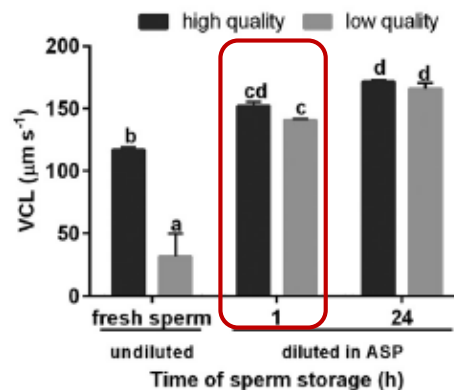
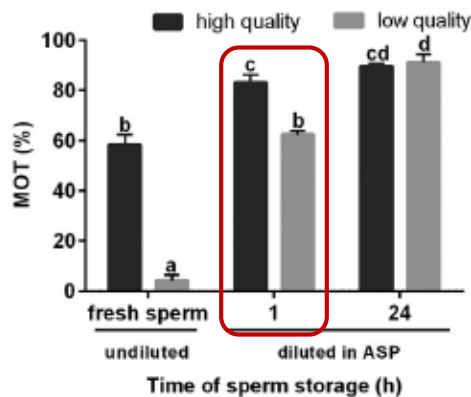
Artificial seminal plasma improves motility and fertilisation capacity of common carp *Cyprinus carpio* L. sperm during one hour of storage

Beata Irena Cejko^{a,*}, Daniel Źarski^a, Katarzyna Palińska-Źarska^b, Mariola Słowińska^a, Radosław Kajetan Kowalski^b

^a Department of Gamete and Embryo Biology, Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Science, Olsztyn, Poland
^b Department of Ichthyology, Faculty of Environmental Sciences, University of Warmia and Mazury, Olsztyn, Poland



ASP dla karpia: 2 mM CaCl₂, 1 mM Mg₂SO₄, 20 mM Tris, 110 mM NaCl, 40 mM KCl
(osmolalność 310 mOsm/kg i pH 7,5)



Starzenie się plemników oraz metody kontroli

przechowywanie nasienia w warunkach *in vitro*

Cel

3. Ograniczenie manipulacji z tarlakami

dbałość o kondycję i zdrowotność tarlaków
krzyżowanie osobników odległych od siebie genetycznie
możliwość uzyskania efektu heterozji

4. Restytucja gatunków zagrożonych

ochrona populacji przed wystąpieniem imbredu
wzrost jakości podchowywanego materiału
zachowanie zmienności genetycznej rozradzanych ryb

5. Zarządzanie stadem tarłowym

możliwość produkcji krzyżówek
efektywne wykorzystanie nasienia (neosamce)
wzrost ekonomiki produkcji

Kiedy

➤ **wzrost efektywności rozrodu**



Warunki przechowywania nasienia krótkookresowo

przechowywanie nasienia w warunkach *in vitro*

Bufory i dodatki



zdeponowanie porcji nasienia w warunkach *in vitro* - poza organizmem tarlaka



- gatunkowo specyficzne (w oparciu o skład plazmy nasienia danego gatunku)
- zapewnienie plemnikom substancji odżywczych (białka, cukry, antyoksydanty)
- wydłużenie czasu przechowywania (kofeina, antybiotyki)
- ograniczenie sedymentacji plemników oraz mechanicznych uszkodzeń (alginian sodu)

Krioprotektory

- zabezpieczenie błon komórkowych plemników przed zmianami warunków przechowywania (metanol, glicerol, DMSO, DMA, cukry: glukoza, sacharoza, trehaloza)

Warunki przechowywania nasienia krótkookresowo

przechowywanie nasienia w warunkach *in vitro*

Bufory i dodatki

Tabela 1. Wybrane bufory oraz ich składniki stosowane do przechowywania nasienia ryb łososiowatych. A – Morisawa i Morisawa (1988), B – Baynes (1999), C – Kobayashi i in. (2004).

Składniki (g/l)	Bufory		
	A	B	C
NaCl	5,52	2,35	7,60
KCl	2,00	9,00	2,98
CaCl ₂	1,60	0,29	0,37
MgCl ₂	0,30	-	0,31
NaHCO ₃	-	5,00*	0,21
Tris	2,42	-	-
Glicyna	3,75	-	-
NaH ₂ PO ₄	-	0,51	-
MgSO ₄	-	0,29	-
Glukoza	-	5,00*	-
pH	8,20	nie podano	8,50 - 9,90

* składniki należy przygotować jako oddzielny roztwór po czym zmieszać z roztworem zawierającym pozostałe komponenty w stosunku 1:4 tuż przed użyciem. W przeciwnym wypadku w roztworze wytrąci się osad uniemożliwiający właściwe przechowanie prób.

Warunki przechowywania nasienia krótkookresowo

przechowywanie nasienia w warunkach *in vitro*

Temperatura



- odmienny skład lipidowy błon komórkowych plemników

wielonienasycone kwasy tłuszczowe



- zapewnienie płynności
- wydalanie metabolitów
- absorpcja nutrientów
- wymiana tlenowa

+4°C



większy udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych

+8°C



mniejszy udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych

wpływ temperatury otoczenia - spermatogeneza

słabsza dynamika procesów oksydacyjnych

silniejsza dynamika procesów oksydacyjnych

łatwiejsze zachowanie żywotności w warunkach *in vitro*

trudniejsze zachowanie żywotności w warunkach *in vitro*

Warunki przechowywania nasienia krótkookresowo

przechowywanie nasienia w warunkach *in vitro*

Rozrzedzenie



podtrzymanie bazowego metabolizmu

- rozrzedzenie szkodliwych metabolitów oddychania komórkowego
- zapewnienie plemnikom lepszego dostępu do tlenu



ogranicza negatywny wpływ kumulowania się produktów przemiany materii

rozrzedzenie nasienia (10x)



1 porcja nasienia (1 ml)

9 porcji ASP (9 ml)



rozrzedzenie nasienia (30x)



1 porcja nasienia (1 ml)

29 porcji ASP (29 ml)



Warunki przechowywania nasienia krótkookresowo

techniki przechowywania nasienia

Cienka warstwa



mieszanie nasienia 1x dziennie

Warunki przechowywania nasienia krótkookresowo

transport nasienia

Skuteczność przechowywania nasienia



- właściwy sposób pozyskania nasienia
- wstępna ocena jakości nasienia
- wybór prób które cechuje najlepsza jakość

Czas



zoptimalizowany do możliwości zastosowanej metody i warunków przechowywania



nasienie < 30% nie daje zadowalających efektów zapłodnienia i nie należy go wykorzystywać do celów produkcyjnych

Opracowanie i opatentowanie rozrzedzalników do przechowywania nasienia kilku gatunków ryb



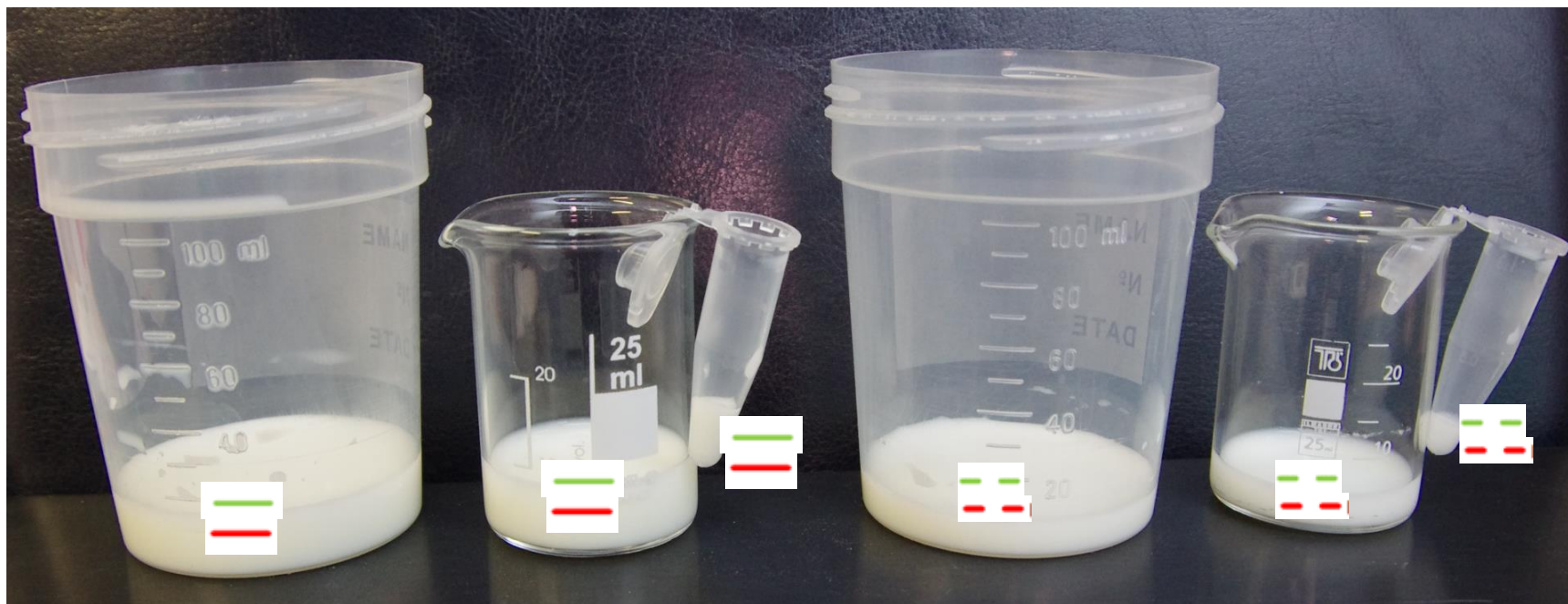
Tabela 2. Rozrzedzalniki do przechowywania nasienia ryb oraz ich parametry techniczne.

Rozrzedzalnik fishpreser	Gatunki	Zakres obsługi (mieszanie)	Stopień rozrzedzenia nasienia	Maksymalny czas przechowywania (temp. +4°C)
Salmo	Łososiowate	2x dziennie	10x	21 dni
Salmo trip		1x co 5 dni	10x	10 dni
SalmoXX	Łososiowate <i>nasienie gonadalne</i>	2x dziennie	30x	10 dni
SalmoXX trip		1x co 5 dni	30x	5 dni
Carp	Karpowate	2x dziennie	10x	10 dni
Carp trip		1x co 5 dni	10x	10 dni
Acipenser	Jesiotrowate	2x dziennie	3x	21 dni
Acipenser trip		1x co 5 dni	3x	15 dni
Esox	Szczupak	2x dziennie	5x	7 dni

Fishpreser salmo TRIP – prezentacja zasady działania



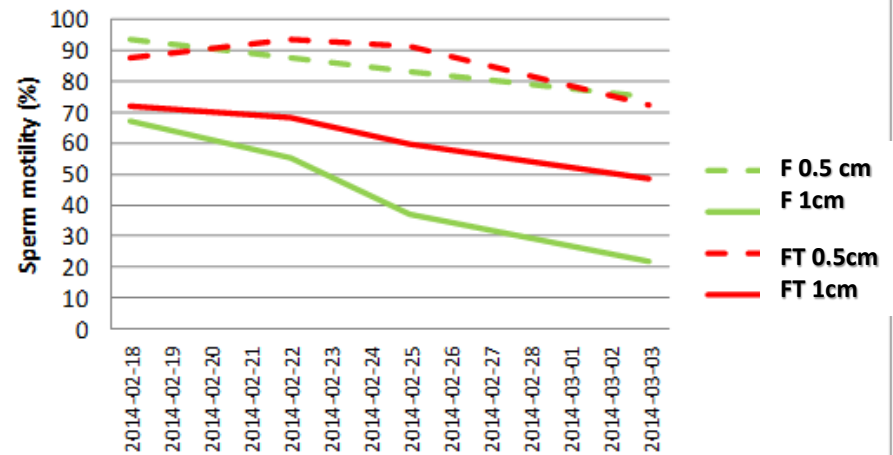
Porównanie możliwości przechowywania nasienia gonadalnego pstrąga tęczowego w rozrzedzalnikach fishpreser salmo



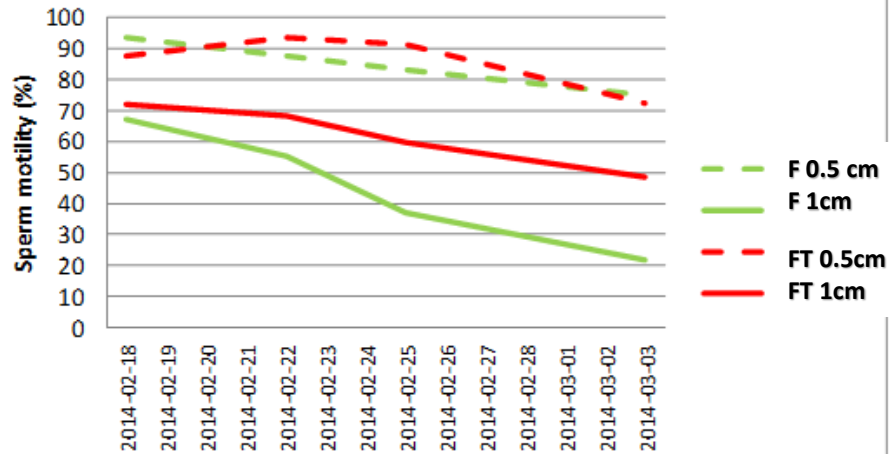
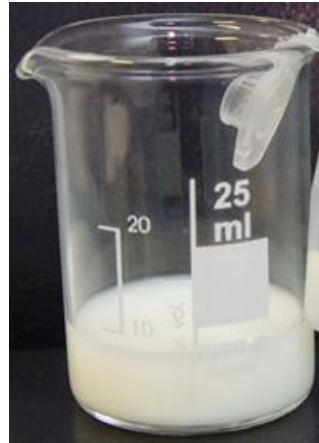
Fishpreser — 1 cm
Fishpreser TRIP — 1 cm

Fishpreser - - 0.5 cm
Fishpreser TRIP - - 0.5 cm

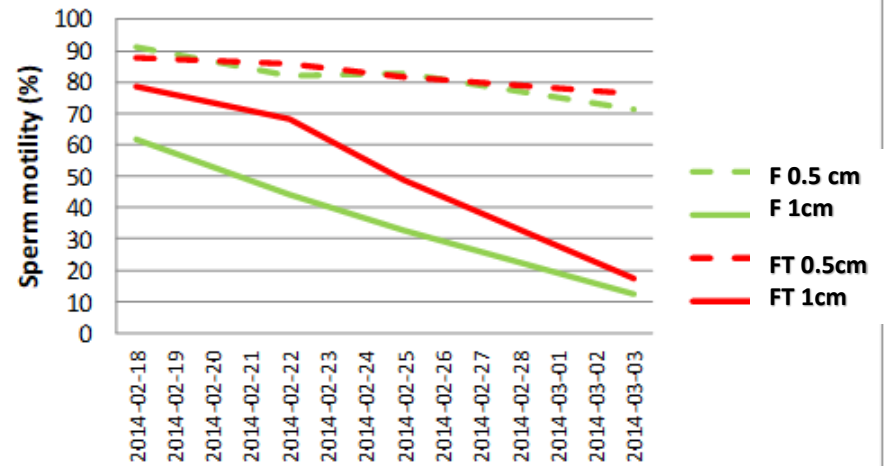
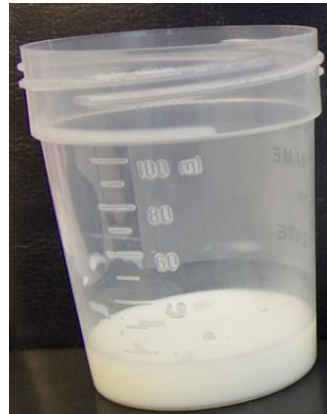
F – fishpreser salmo
 FT Fishpreser salmo TRIP



Przechowywanie
 nasienia gonadального
 w rozrzedzalnikach
 Fishpreser



Czas: 2 tygodnie



Zapraszamy do współpracy w ramach Programu Doradztwa Rybackiego „Pozyskiwanie, przechowywanie i zapładnianie gamet ryb”

- Możliwość zaproszenia zespołu IRZBZ PAN na przyjazd w ramach indywidualnego szkolenia z zakresu rozrodu ryb.
- Koszty przyjazdu, szkolenia oraz niezbędnych roztworów pokrywa IRZBZ PAN.
- Możliwość zarezerwowania do 3 terminów szkoleń rocznie dla jednego beneficjenta.
- Szkolenie obejmuje część teoretyczną oraz praktyczną.
- Zapisy poprzez email: b.cejko@pan.olsztyn.pl



Unia Europejska
Europejski Fundusz
Morski i Rybacki





Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie
Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie



Beata I. Cejko

b.cejko@pan.olsztyn.pl

*Zakład Biologii Gamet i Zarodka,
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polska Akademia Nauk, Olsztyn*

Dziękuję za uwagę



Unia Europejska
Europejski Fundusz
Morski i Rybacki

