



Najnowsze osiągnięcia w kriokonserwacji nasienia ryb łososiowatych

Innowacyjna wylęgarnia - wdrożenie kriokonserwacji nasienia do programów doskonalenia hodowli ryb łososiowatych CRYOHATCH
TANGO1/266953/NCBR/2015

Andrzej Ciereszko, Sylwia Judycka, Joanna Nynca, Ewa Liszewska, Mariola A. Dietrich, Mariola Słowińska, Halina Karol, Agnieszka Mostek, Stefan Dobosz

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

Zakład Hodowli Ryb Łososiowatych, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie



M · C · B



KATALOG BUHAJÓW

2018



UK 661561

ur. 11.04.2013 r.



Import: Wielka Brytania

Właściciel: MCB Sp. z o.o. z/s w Krasnem

FR2923747318

ur. 18.01.2013 r.



Import: Francja

Właściciel: MCB Sp. z o.o. z/s w Krasnem

HF - 100,00%

O. SNOW RF
NL546483691O.O. SNOWMAN
NL388965513M.O. POPPE PIETJE 51
NL584280939M. RIVERDANE ROSES
UK12071569O.M. REFLECTION
UK635723

M.M. KKW GOLDWYN ΔIK

US13/038044

indeks PF

123

WYDAJNOŚĆ MATKI

kg mleka	kg tłuszczu	% tłuszczu	kg białka	% białka
13634	658	4,82	467	3,42



HF - 97,69%

O. DEKADE
NL898807028O.O. DESTRY
US138122625M.O. RITA 438
NL694704385M. FALENA
FR2923747214O.M. JERUDO
DE0113878473

M.M. DANNOISE

FR2923/4/105

indeks PF

118

WYDAJNOŚĆ MATKI

kg mleka	kg tłuszczu	% tłuszczu	kg białka	% białka
10512	409	3,90	346	3,47



Cechy produkcyjne

liczba córek: 78, liczba obór: 46,
powtarzalność: 65-69%

wydajność mleka [kg]	1028
wyd. tłuszczu [kg]	33,6
wyd. tłuszczu [%]	-0,10
wyd. białka [kg]	32,5
wyd. białka [%]	-0,01

Podindeksy

produkcyjny	122
pokroju ogólny	113
ramy ciała	111
sily mleczności	110
nóg i racic	108
wymienia	111

Cechy produkcyjne

liczba córek: 53, liczba obór: 41,
powtarzalność: 61-69%

wydajność mleka [kg]	380
wyd. tłuszczu [kg]	7,0
wyd. tłuszczu [%]	-0,11
wyd. białka [kg]	23,6
wyd. białka [%]	0,15

Podindeksy

produkcyjny	110
pokroju ogólny	118
ramy ciała	106
sily mleczności	109
nóg i racic	118
wymienia	113

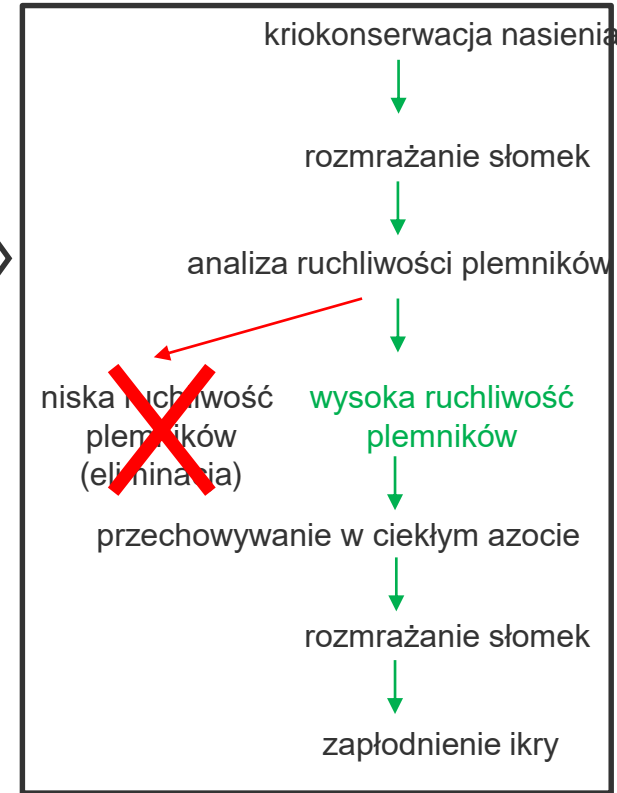
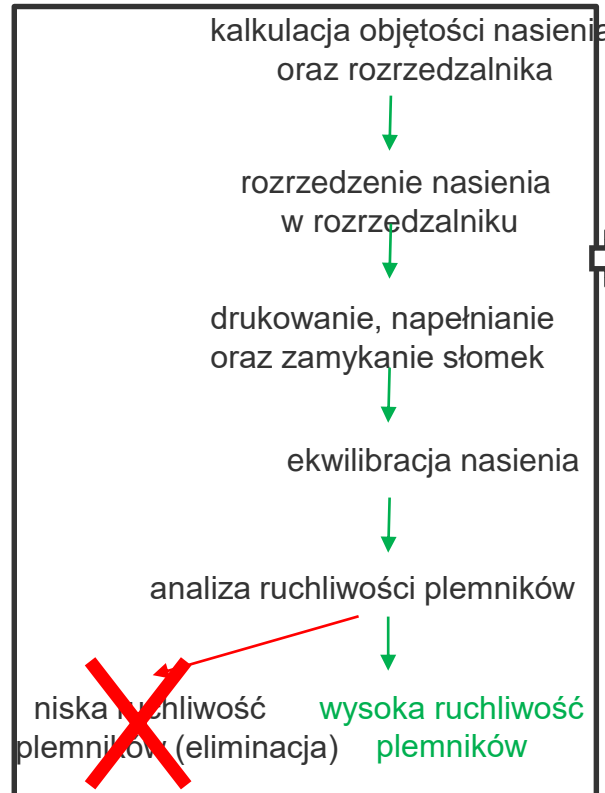
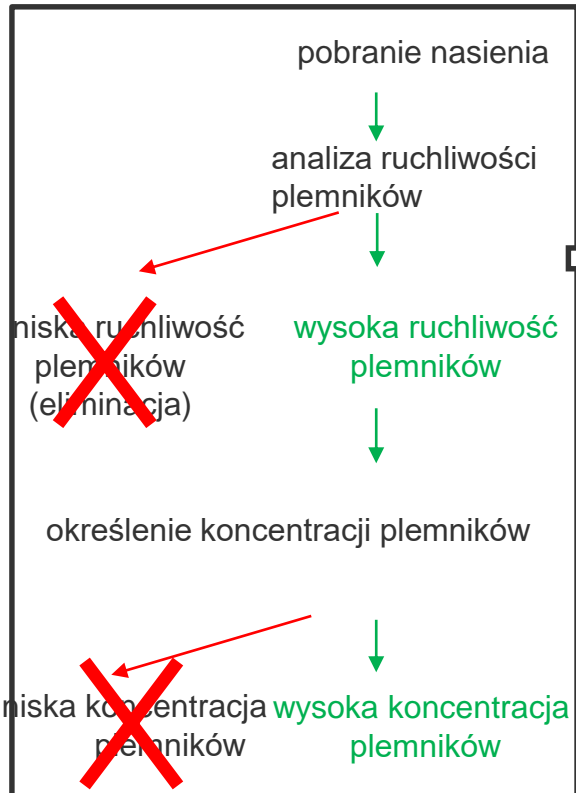


Schemat kriokonserwacji nasienia ryb łososiowatych

Pobranie nasienia oraz określenie jakości świeżego nasienia

Ekwilibracja oraz określenie jakości nasienia

Kriokonserwacja nasienia oraz określenie jakości plemników po rozmrożeniu



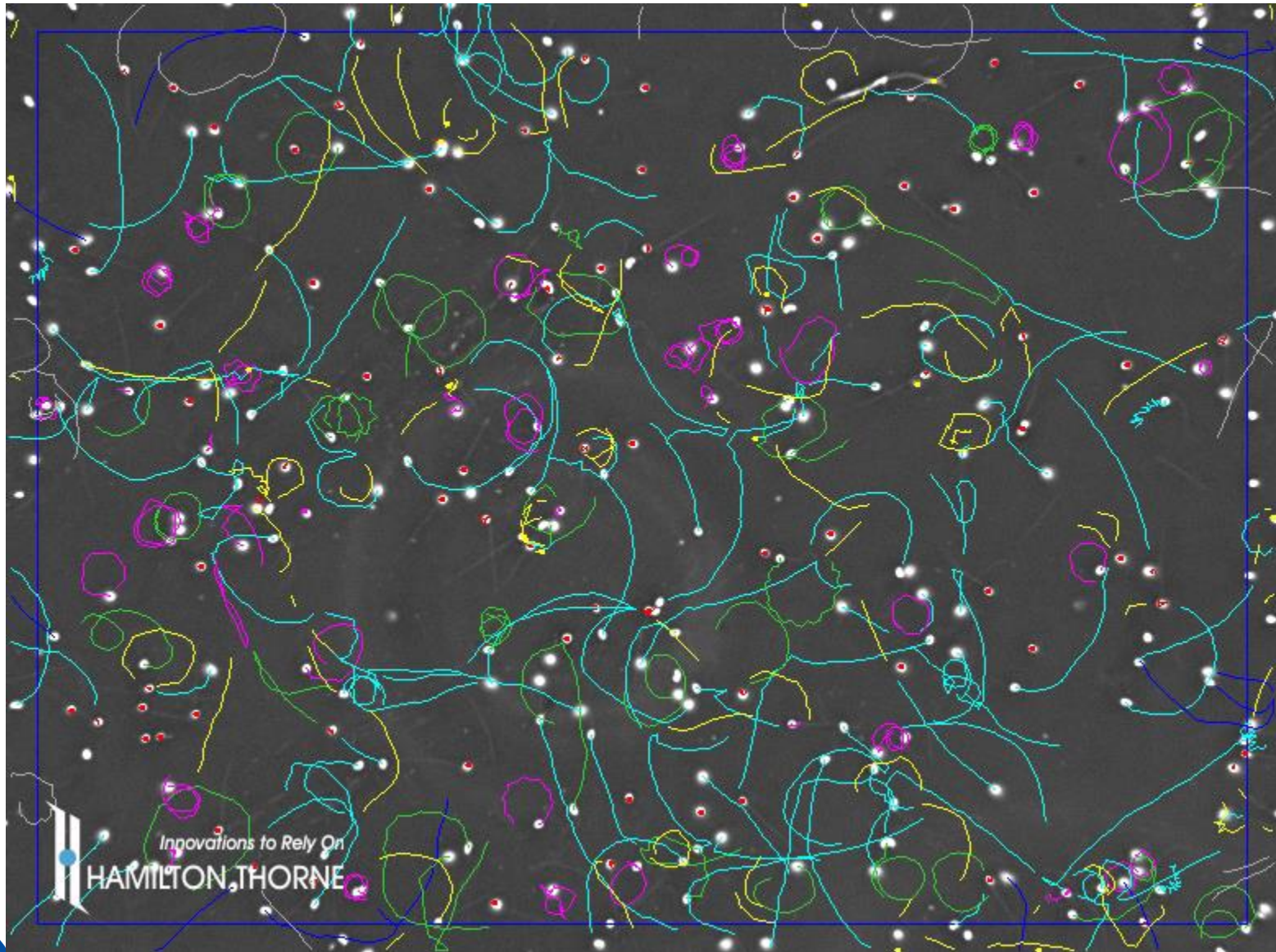
Pobranie nasienia oraz określenie jego jakości



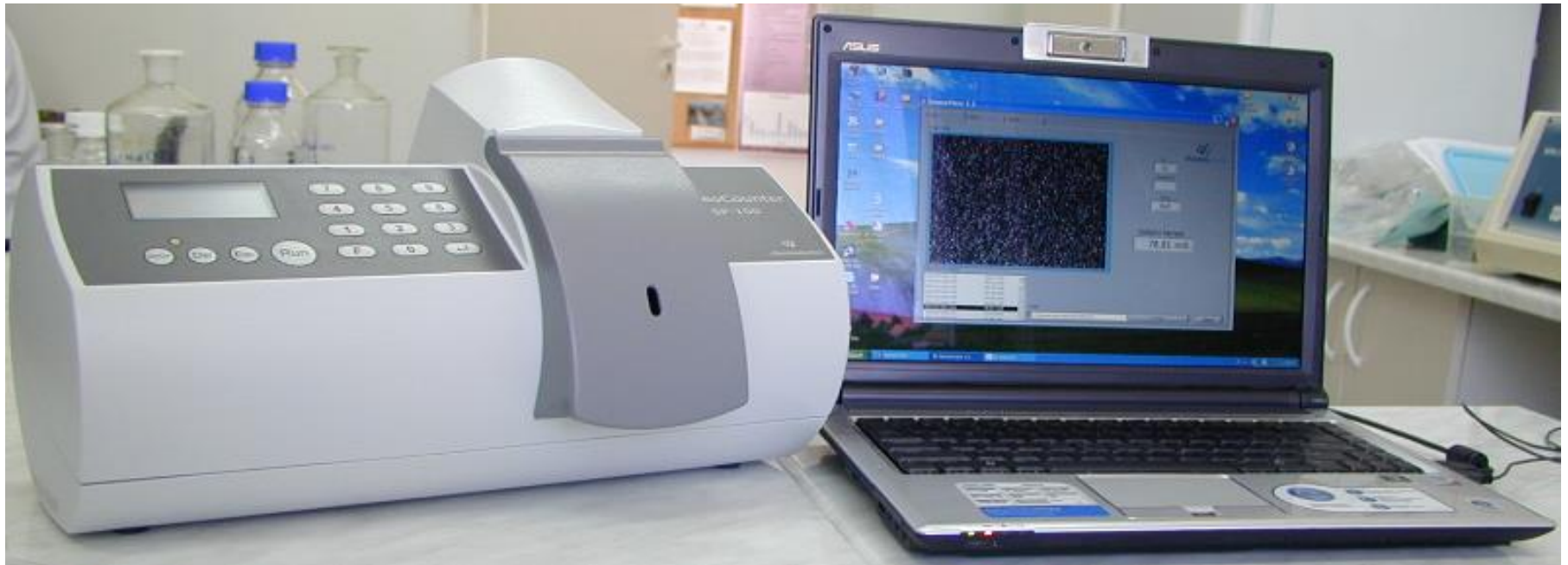
Podaż wystarczającej ilości nasienia dobrej jakości od wielu gatunków ryb łososiowatych



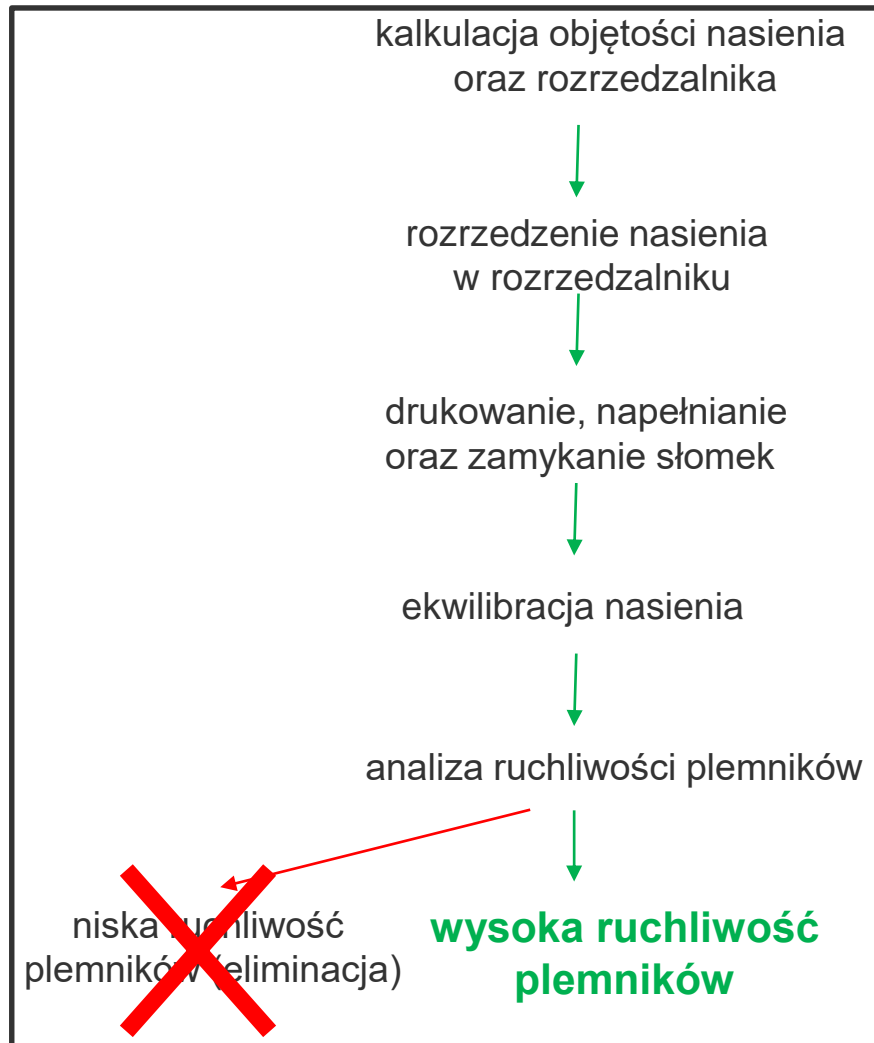
Komputerowa analiza ruchu plemników



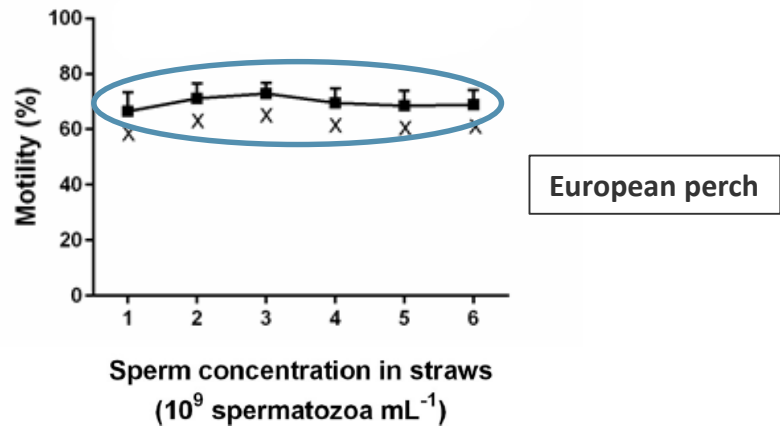
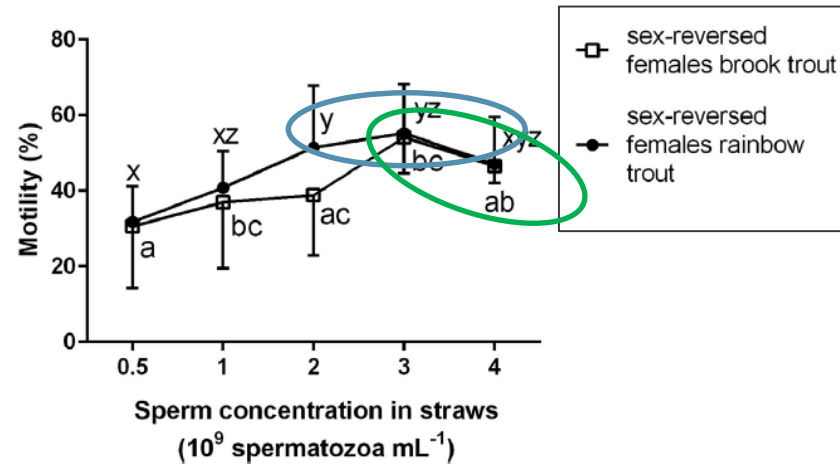
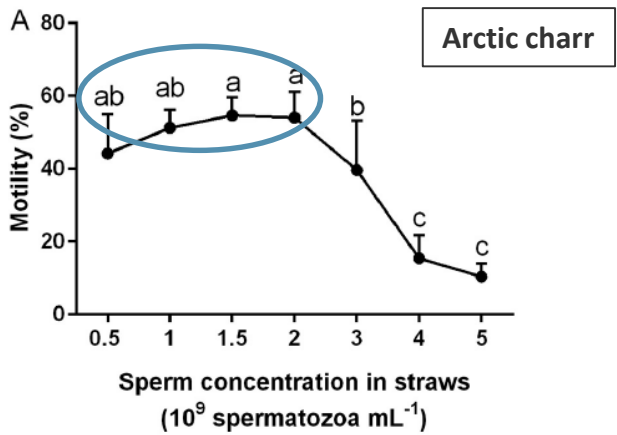
Pomiar koncentracji nasienia



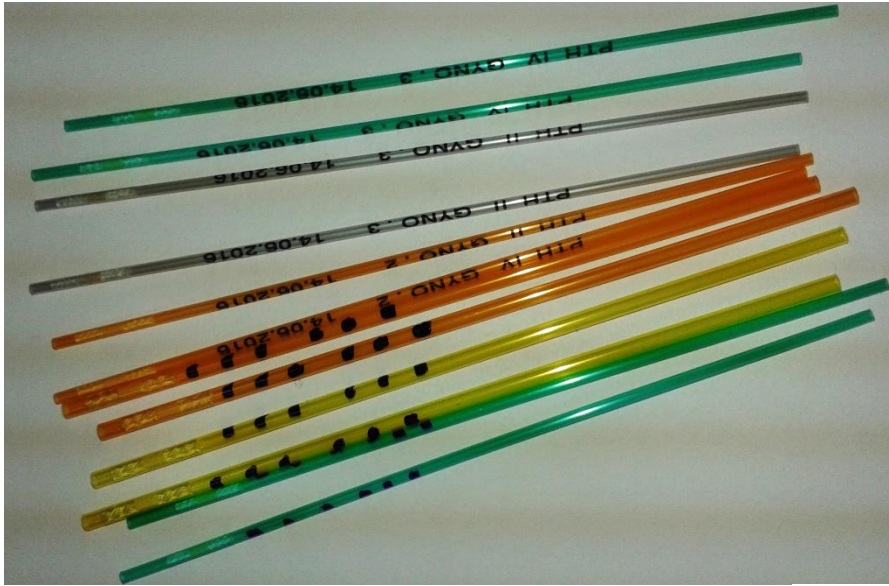
Ekwilibracja oraz określenie jakości nasienia



Końcowa koncentracja plemników wpływa na wyniki kriokonserwacji

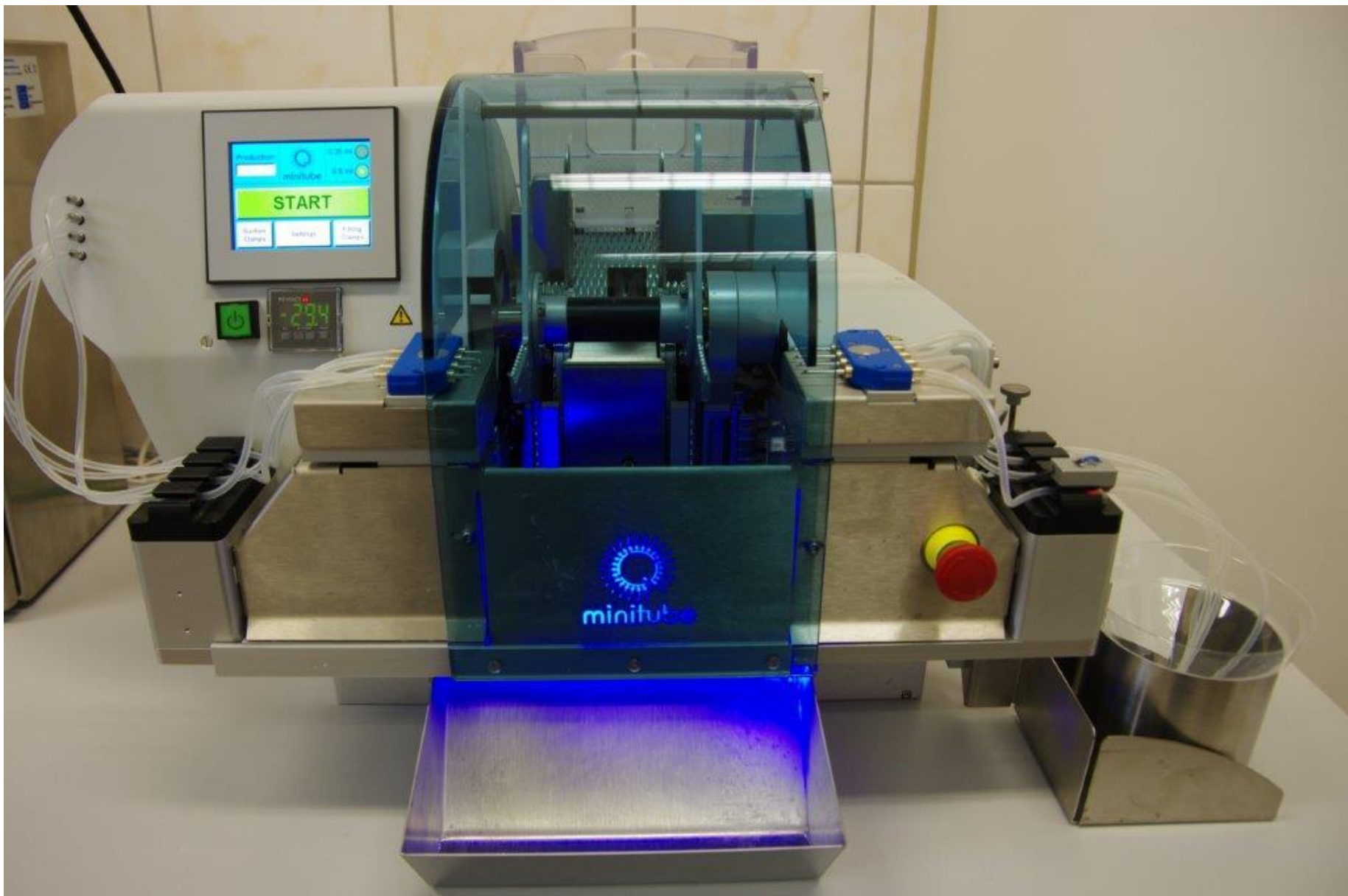


Drukowanie informacji na słomkach



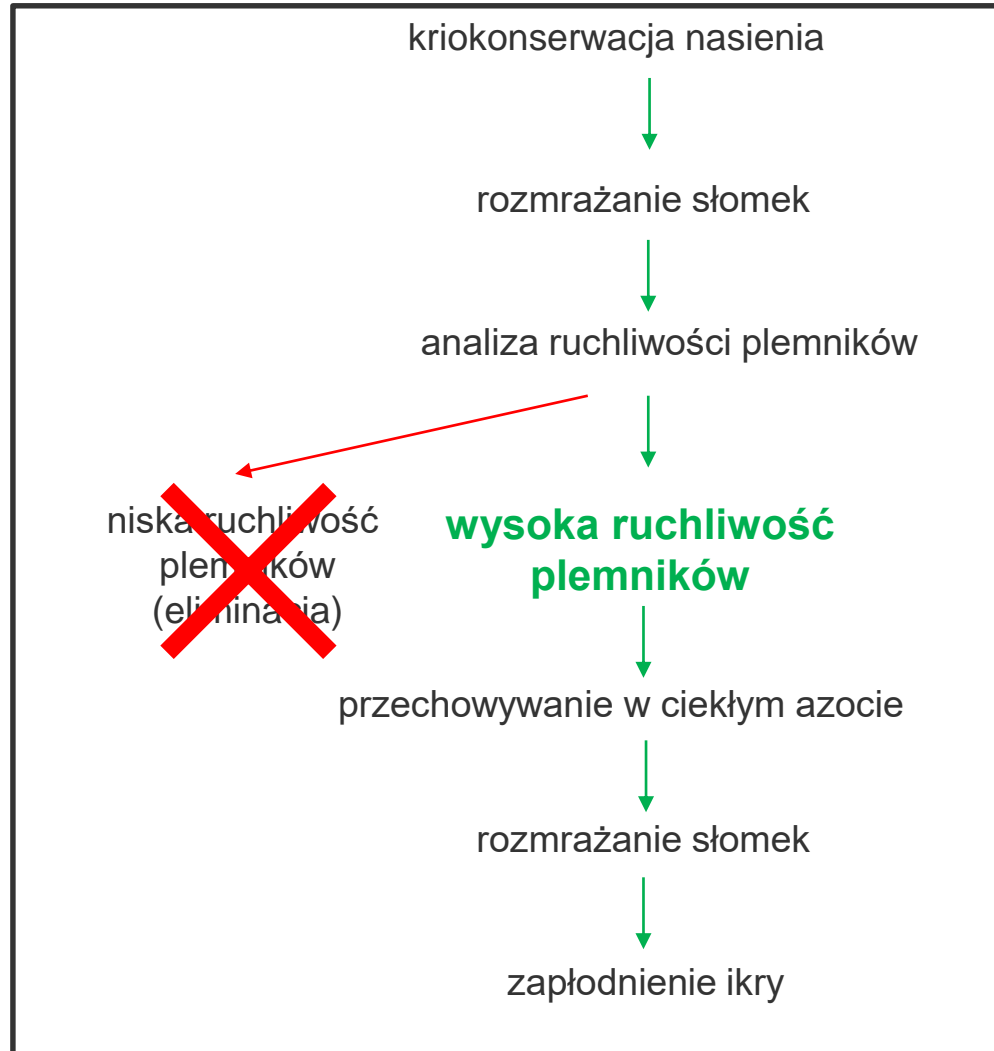
Drukarka EasyCoder (Minitube)

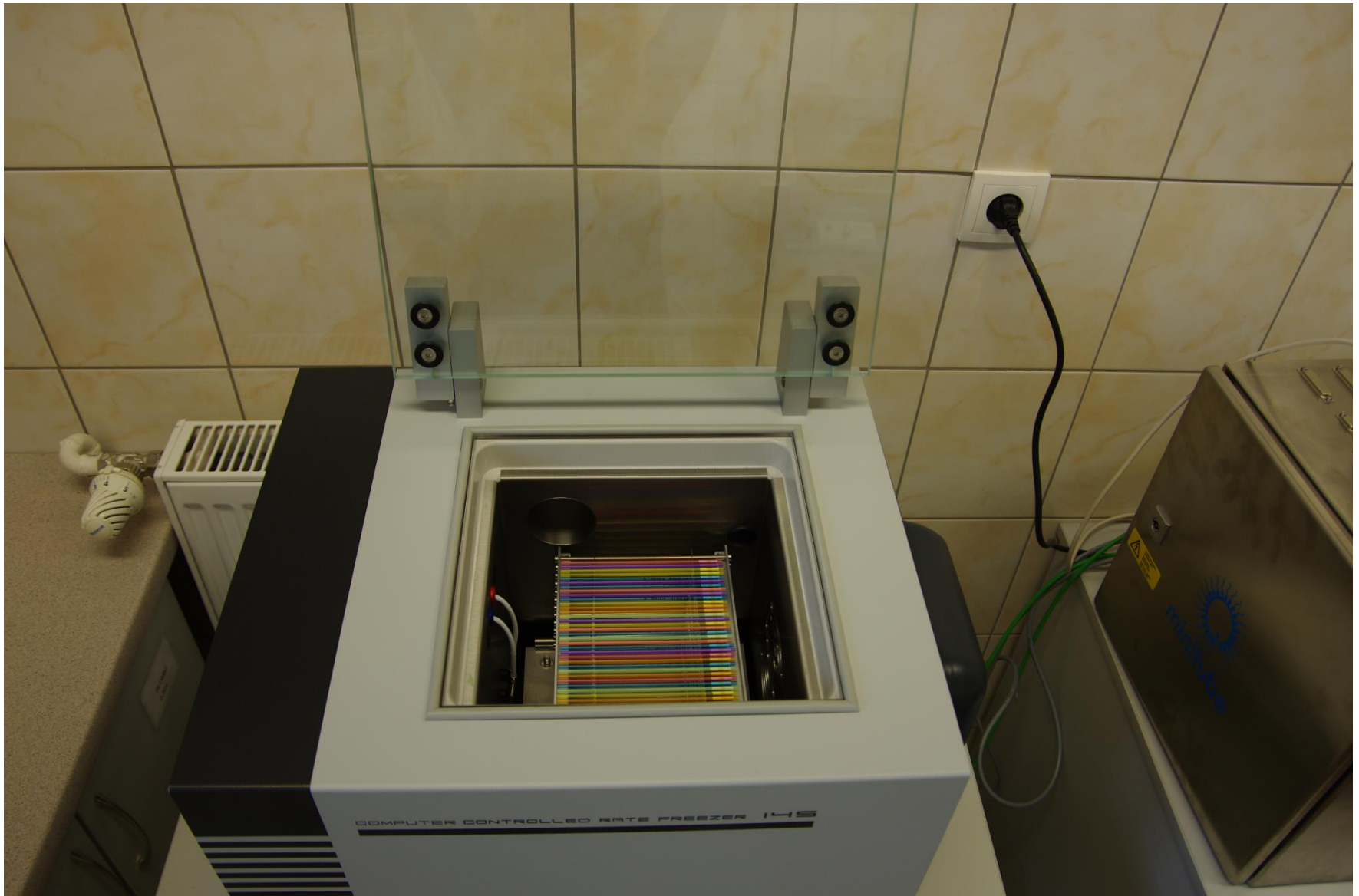


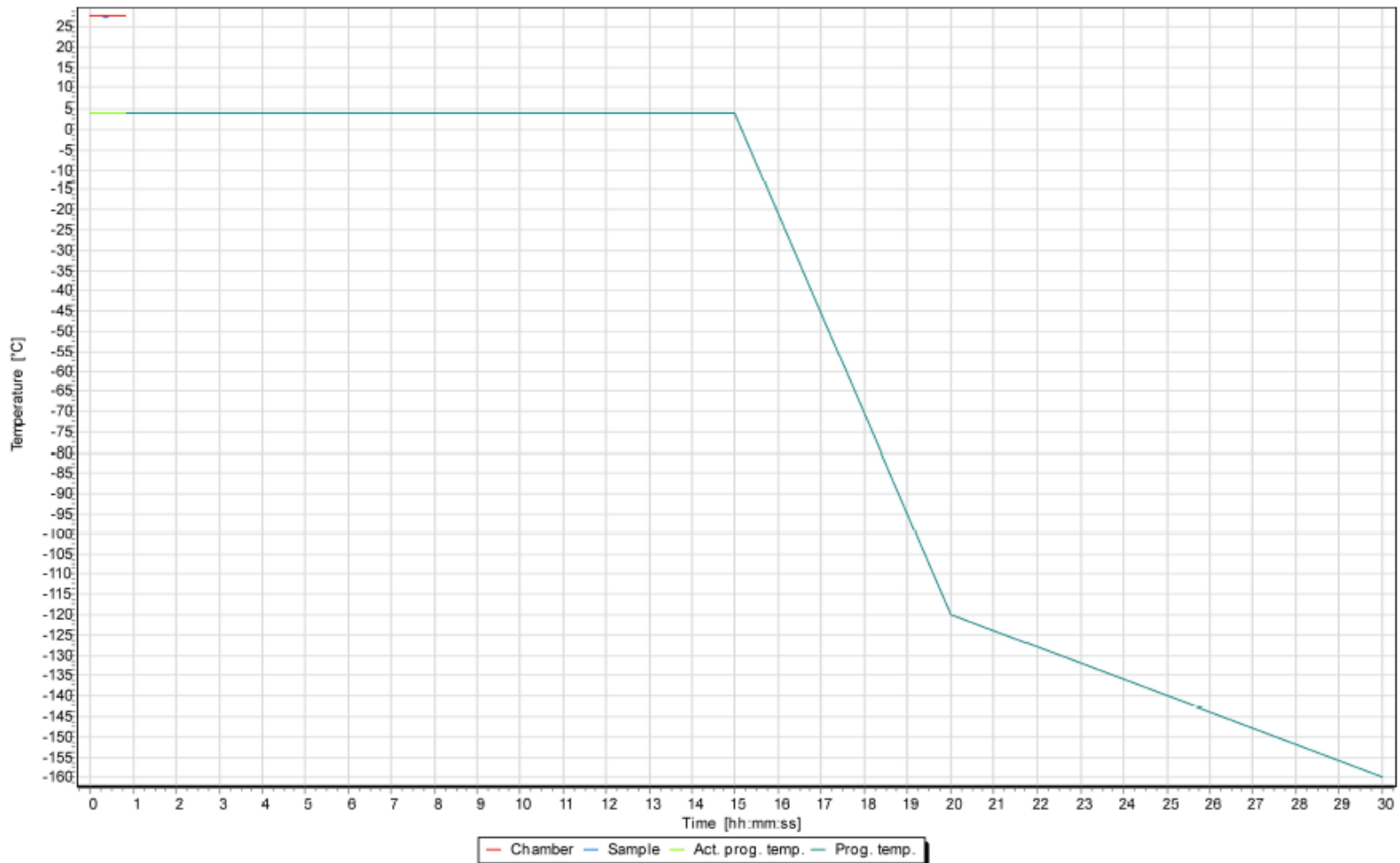




Kriokonserwacja nasienia oraz określenie jakości plemników po rozmrożeniu







Program: Dabie neosamce.frz

Operator: TheOperator

PTA II_2018-07-10_12-30-45.PRC



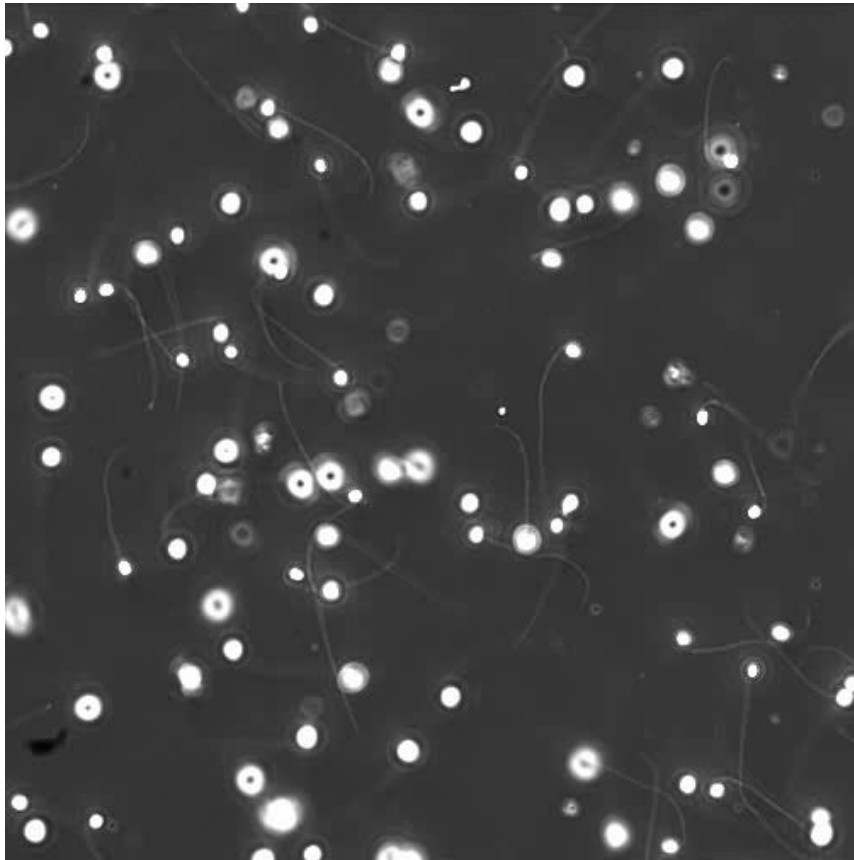
Drukowanie słomek

Rozmrażanie słomek (40 °C, 10 s)

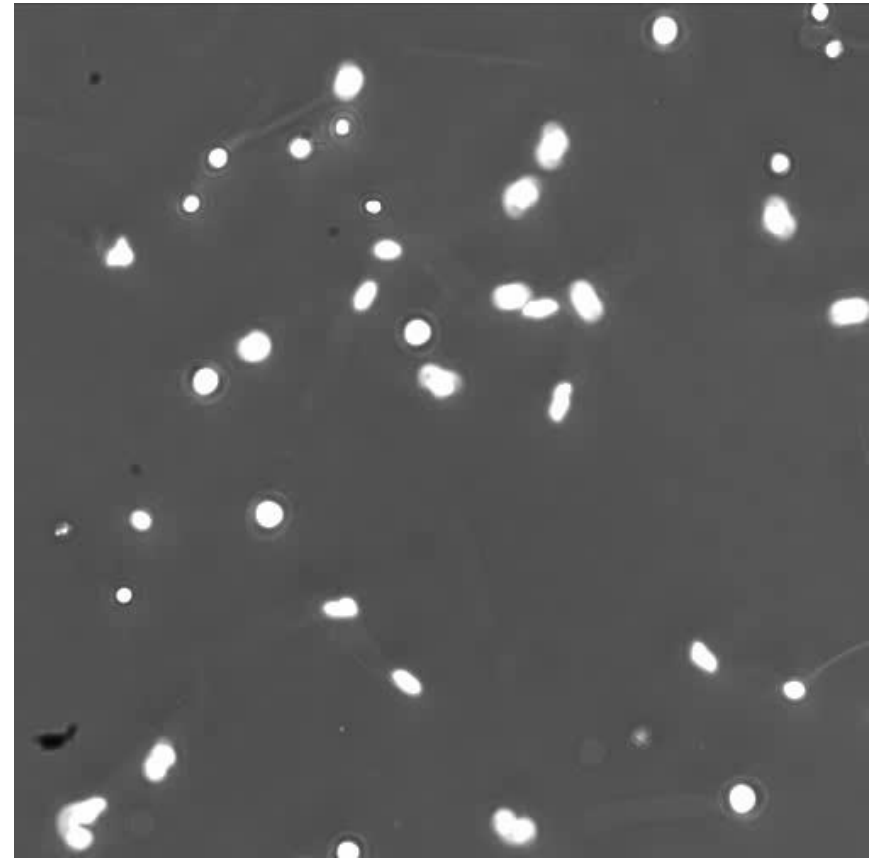


Ruchliwość nasienia po rozmrożeniu

5 – 10%



40 – 50%



Zagrożenie zakażeniem bakteryjnym/wirusowym

Najlepiej, aby każde gospodarstwo dysponowało swoimi kontenerami.

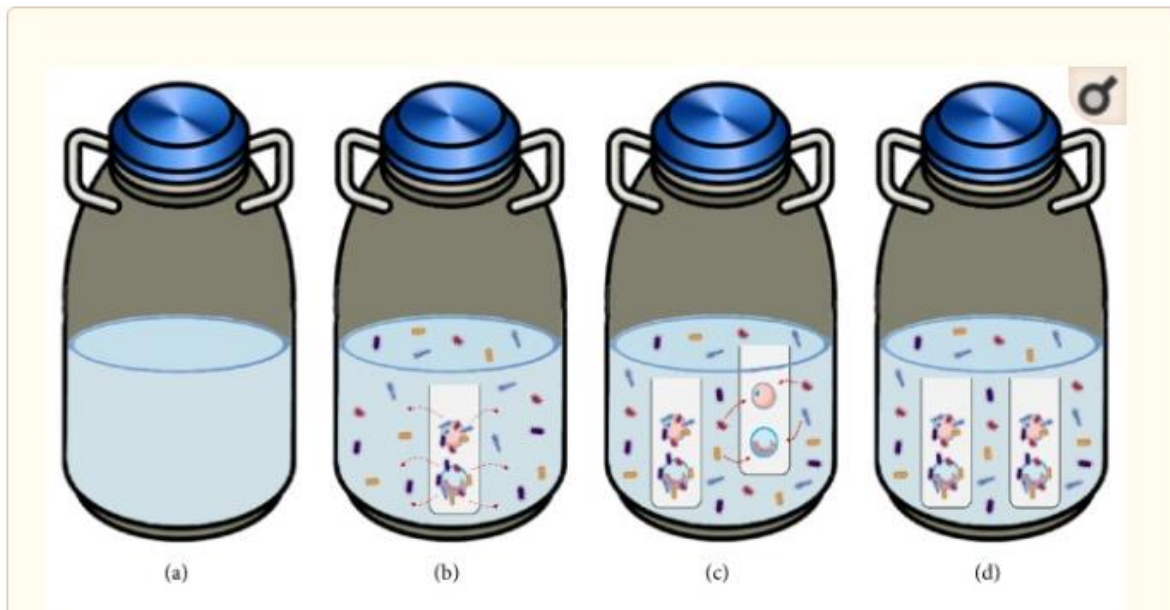


Figure 1

Illustration showing the process of cross-contamination in germinal tissue storage. (a) Container with “pure” LN₂, without microorganisms. (b) Contaminated samples inserted into the container resulting in LN₂ contamination. (c) Samples without microorganisms inserted in the contaminated container. (d) Contamination of samples that were not contaminated.

Charakterystyka wystandardyzowanego produktu (kriokonserwowanego nasienia)

- **Informacja jest wydrukowana na słomce.**
- **Jakość (ruchliwość) kriokonserwowanego nasienia jest znana.**
- **Liczba plemników w słomce jest znana.**

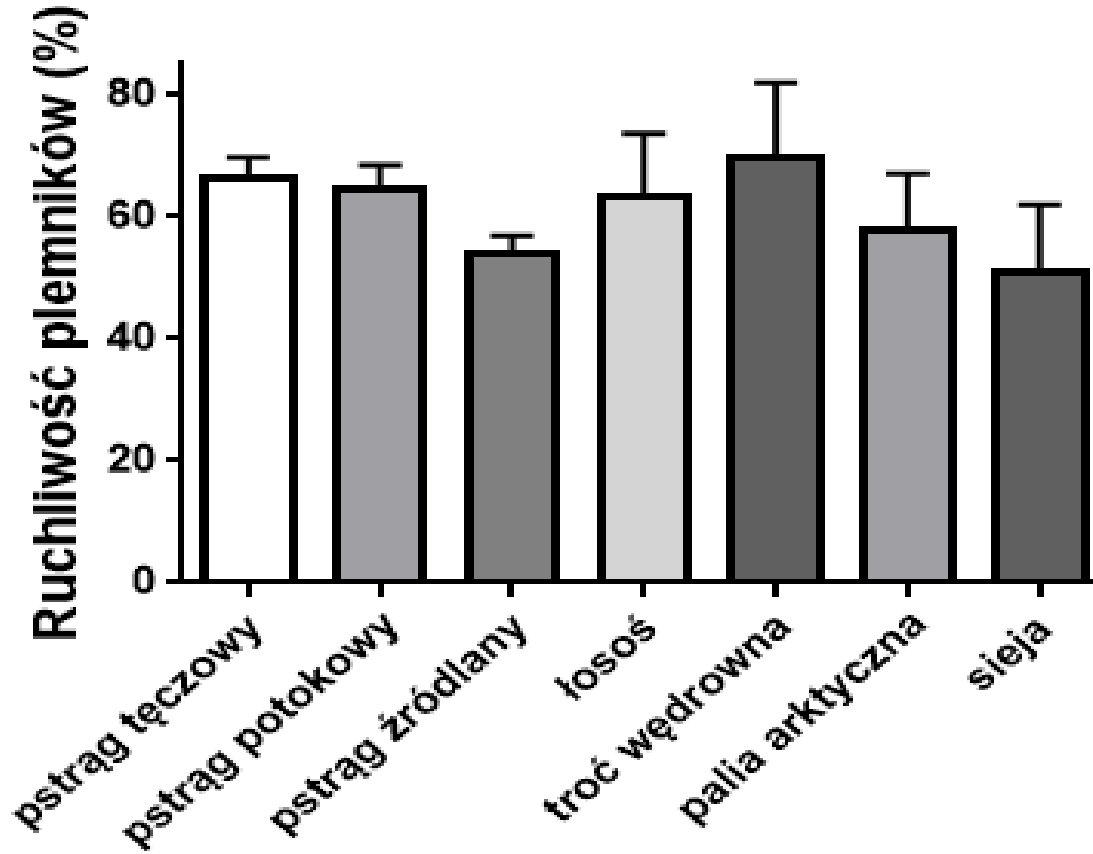


Potencjalni odbiorcy technologii kriokonserwowanego nasienia w Polsce

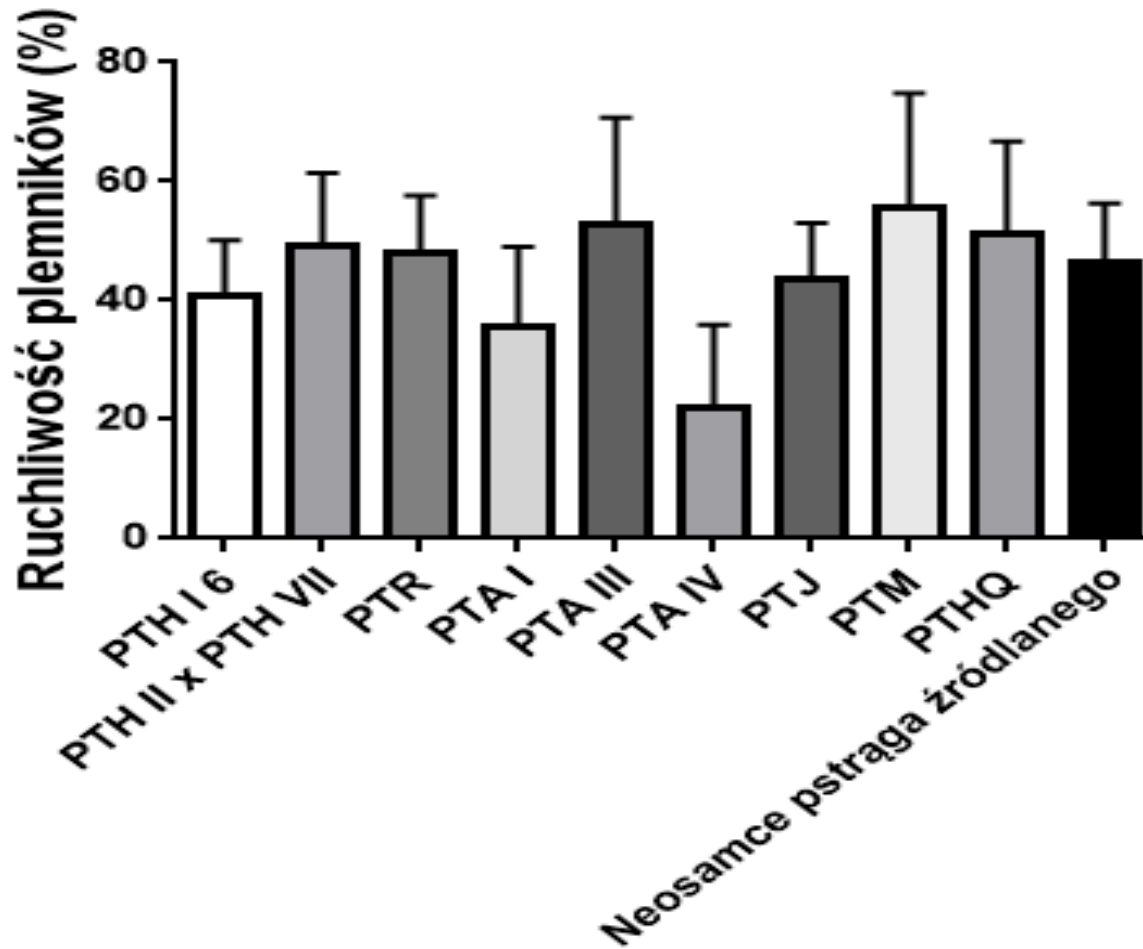
Zarządcy gospodarki rybackiej (zarybienia)

Hodowcy zajmujący się pracą selekcyjną

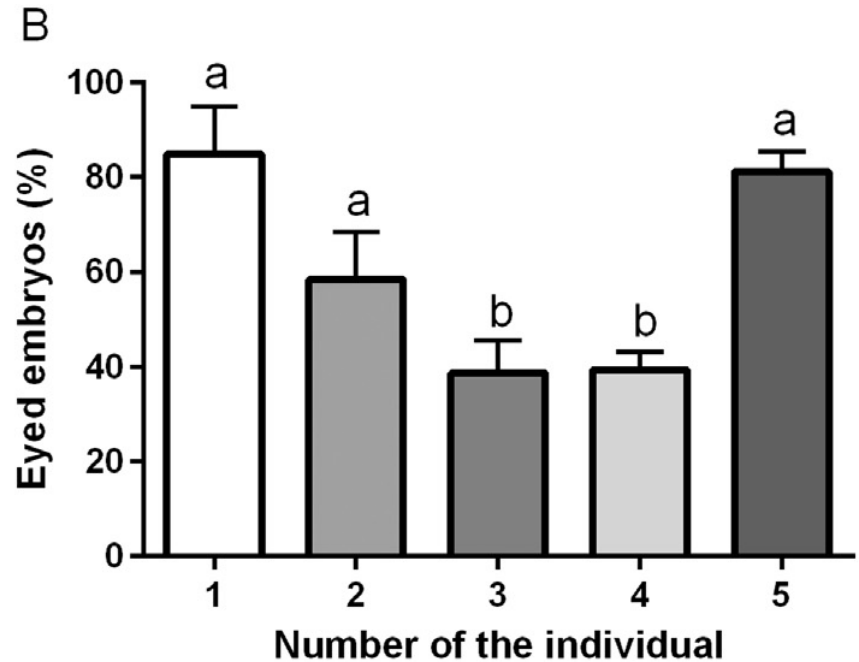
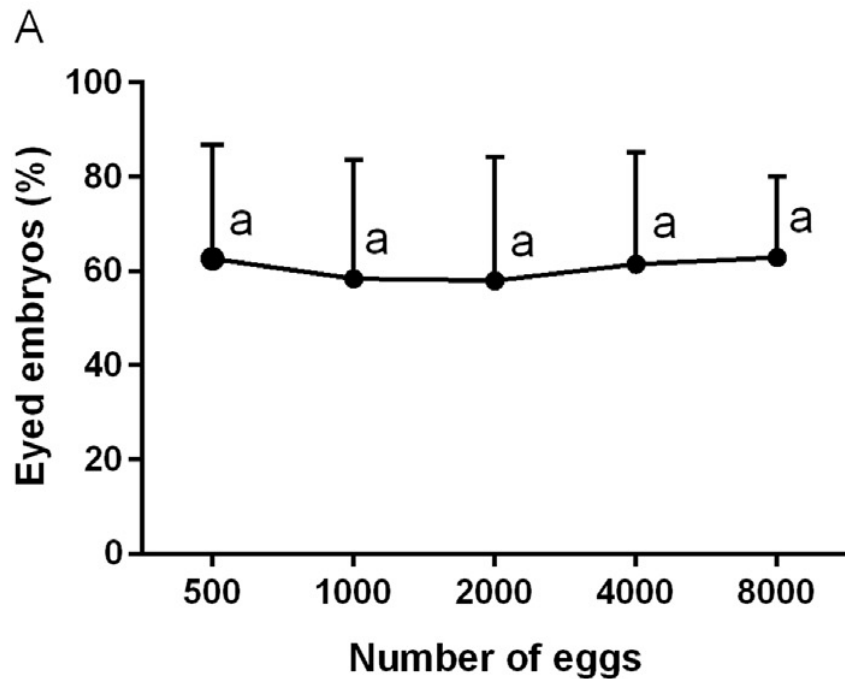
Przeciętna skuteczność kriokonserwacji nasienia ryb łososiowatych



Przeciętna skuteczność kriokonserwacji neosamców linii pstrąga tęczowego oraz pstrąga źródlanego



Jednorazowe zapładnianie na masową skalę z użyciem kriokonserwowanego nasienia



Odtworzenie linii PTH2 GYNO i PTH4

PTH2 GYNO

2 sierpnia 2018 r. przeprowadzono zapłodnienie ikry z użyciem nasienia kriokonserwowanego w 2016 r.

Nasienie zostało użyte do jednorazowego zapłodnienia **10 l** ikry; stosunek plemników na ziarno ikry był bardzo niski i wyniósł około 300 000.

Uzyskano ok. 80% zapłodnienia, tyle samo co w zapłodnieniu kontrolnym z użyciem świeżego nasienia.

PTH4 GYNO

10 września 2019 r. przeprowadzono zapłodnienie ikry z użyciem nasienia kriokonserwowanego w 2016 r.

Nasienie zostało użyte do jednorazowego zapłodnienia **17 l** ikry; stosunek plemników na ziarno ikry był bardzo niski i wyniósł około 300 000.

Uzyskano ok. 90 % zapłodnienia, tyle samo co w zapłodnieniu kontrolnym z użyciem świeżego nasienia.

Dziękuję za uwagę!

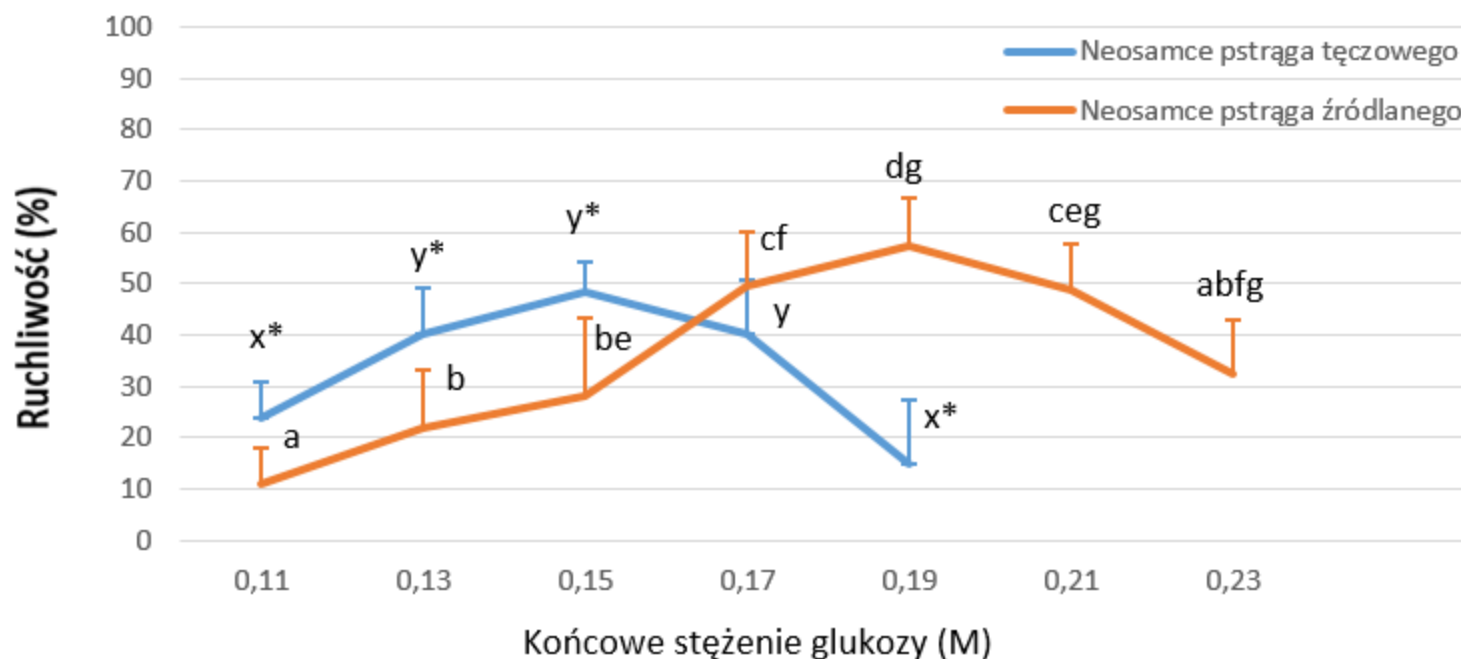




Przechowywanie nasienia w -196 °C



Wpływ końcowego stężenia glukozy



Rys. 2. Wpływ końcowego stężenia glukozy w rozrzedzalniku na ruchliwość plemników neosamców pstrąga tęczowego oraz źródlanego po kriokonserwacji. Wyniki przedstawiono jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe (SD). Wartości oznaczone różnymi literami różniły się od siebie statystycznie ($P < 0.05$). Gwiazdkami oznaczono różnice pomiędzy badanymi gatunkami przy takim samym końcowym stężeniu glukozy.

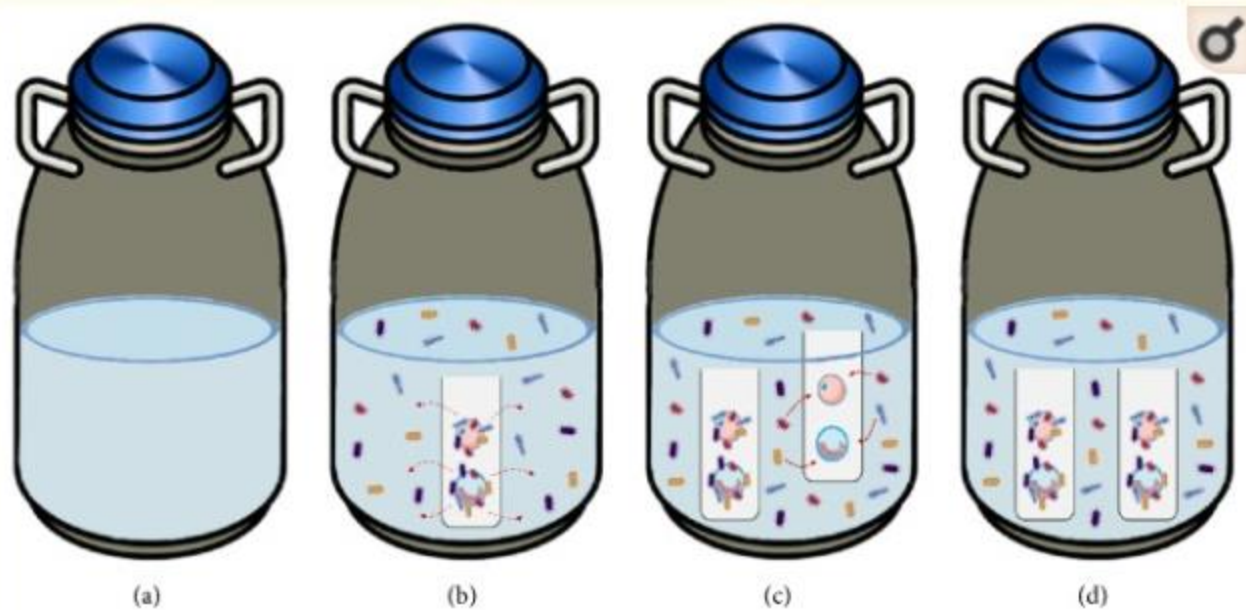


Figure 1

Illustration showing the process of cross-contamination in germinal tissue storage. (a) Container with “pure” LN₂, without microorganisms. (b) Contaminated samples inserted into the container resulting in LN₂ contamination. (c) Samples without microorganisms inserted in the contaminated container. (d) Contamination of samples that were not contaminated.

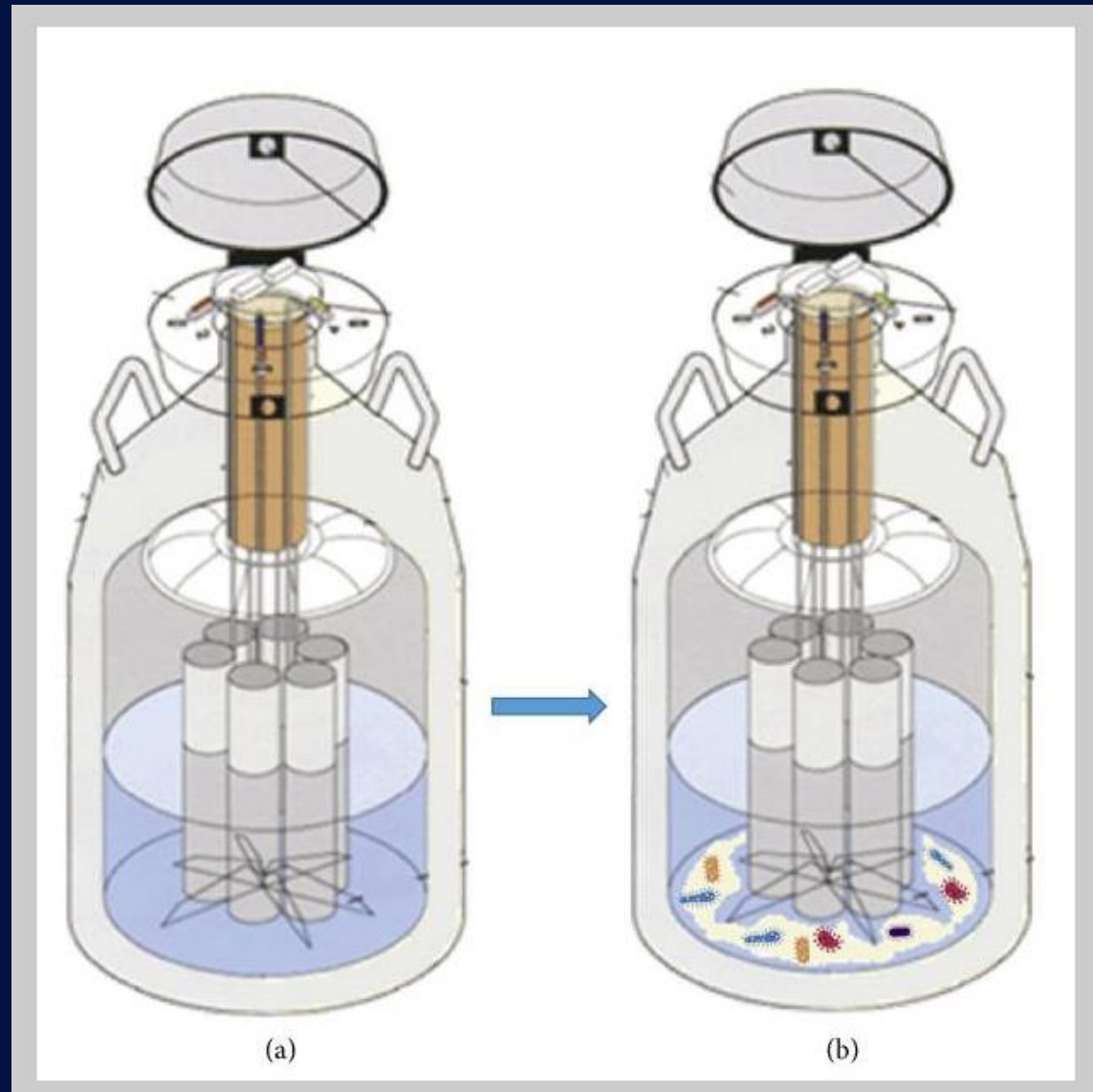
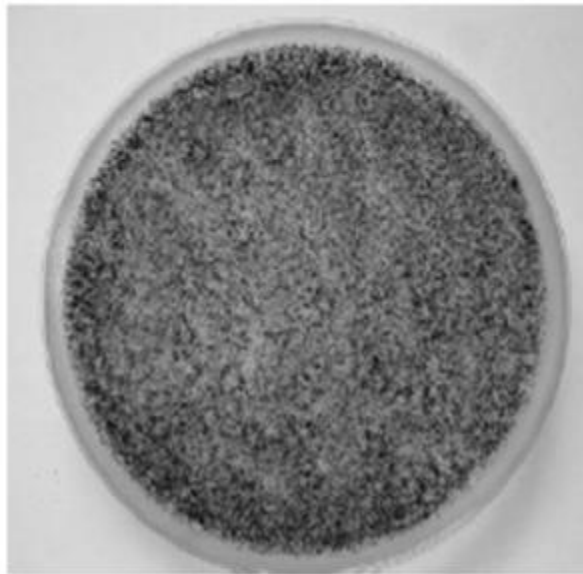
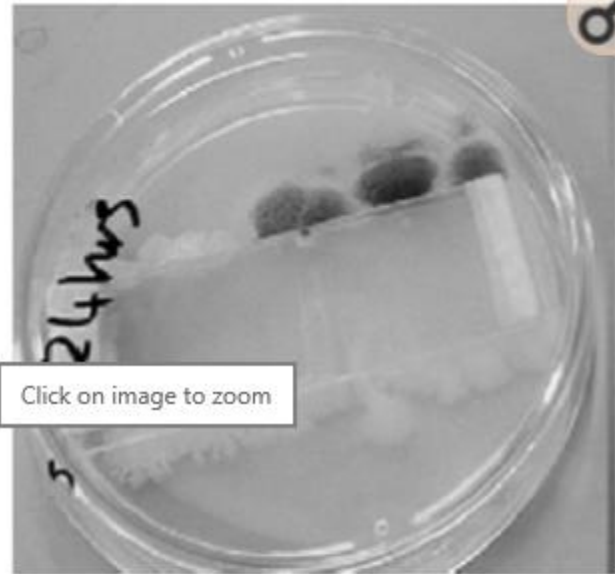


Figure 5

Comparison between new and used cryogenic storage dewars. (a) New dewar, without sediment. (b) After some time of usage, accumulation of sediments occurs agglomerating microorganisms in the bottom of the container.



(a)



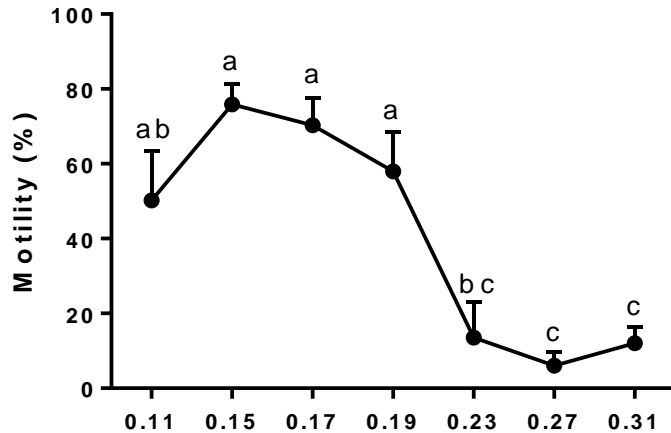
(b)

Figure 4

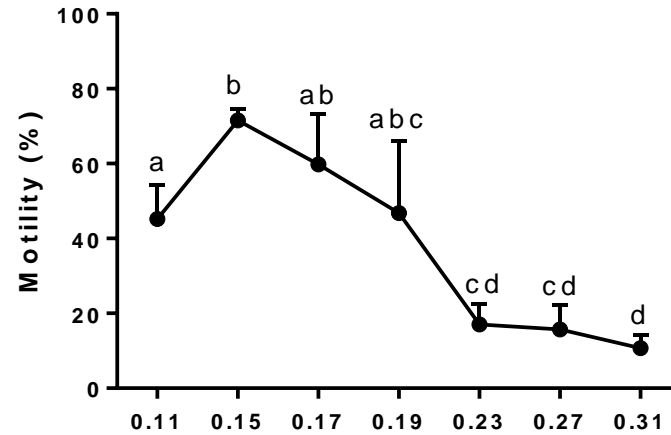
(a) Culture dish showing contamination with *S. minor* in programmable LN₂ freezer. (b) Contamination from the vapor phase of a dry shipper, which was stocked with LN₂ contaminated with *S. minor*.

Optymalne stężenie glukozy

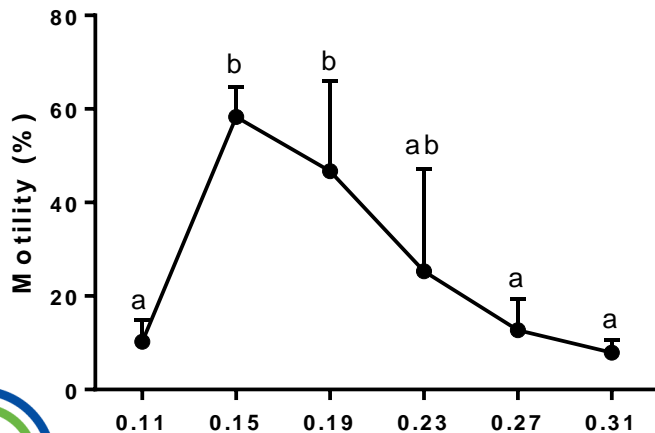
Pstrąg potokowy



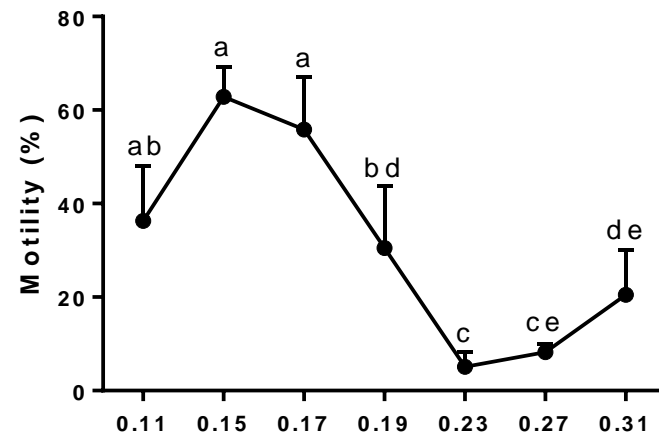
Troć



Pstrąg źródlany



Łosoś



IMV AI SOLUTIONS ▾

[Bovine](#) | [Swine](#) | [Poultry](#) | [Equine](#) | [Ovine / Caprine](#) | [Rabbit](#) | **[Aquaculture](#)** | [Canine](#) | [Biodiversity](#) | [Vegetal](#)



◀ [Go back](#)



Sterile CBS medium straw for sperm with colored cotton plug (100)

Ref : 014650 White / 016611 Yellow / 016612 Green / 016613 Blue / 016614 Orange / 016615 Grey / 016584 Red

[Contact](#) ▶

[FLYER](#)

[Aquaculture Cryolab](#)

[CATALOGUE](#)

[AMP Catalogue](#)

Buhaje - 12×10^6 plemników w słomce (dawka inseminacyjna, na uzyskanie jednego cielaka).

Ryby łososiowate – na zapłodnienie jednej ikrzynki $0,3 \times 10^6$ plemników na ziarno ikry.

Kriokonserwowane nasienie ryb jest 40 razy skuteczniejsze ($12/0,3 = 40$) od nasienia buhaja.

Ogromna różnica w efektywności finansowej użycia kriokonserwowanego nasienia

Buhaje - koszt jednego cielaka może wynieść ok. **600 zł**

Ryby łososiowate – cena 40 sztuk narybku ryb łososiowatych **8-12 zł**





Potencjalne efekty ekonomiczne przy wykorzystaniu jednej słomki

Buhaje - koszt jednego cielaka może wynieść ok. **600 zł**

W jednej słomce (0,5 ml) znajduje się 1,5 mld plemników, co może wystarczyć na zapłodnienie większej liczby oocytów

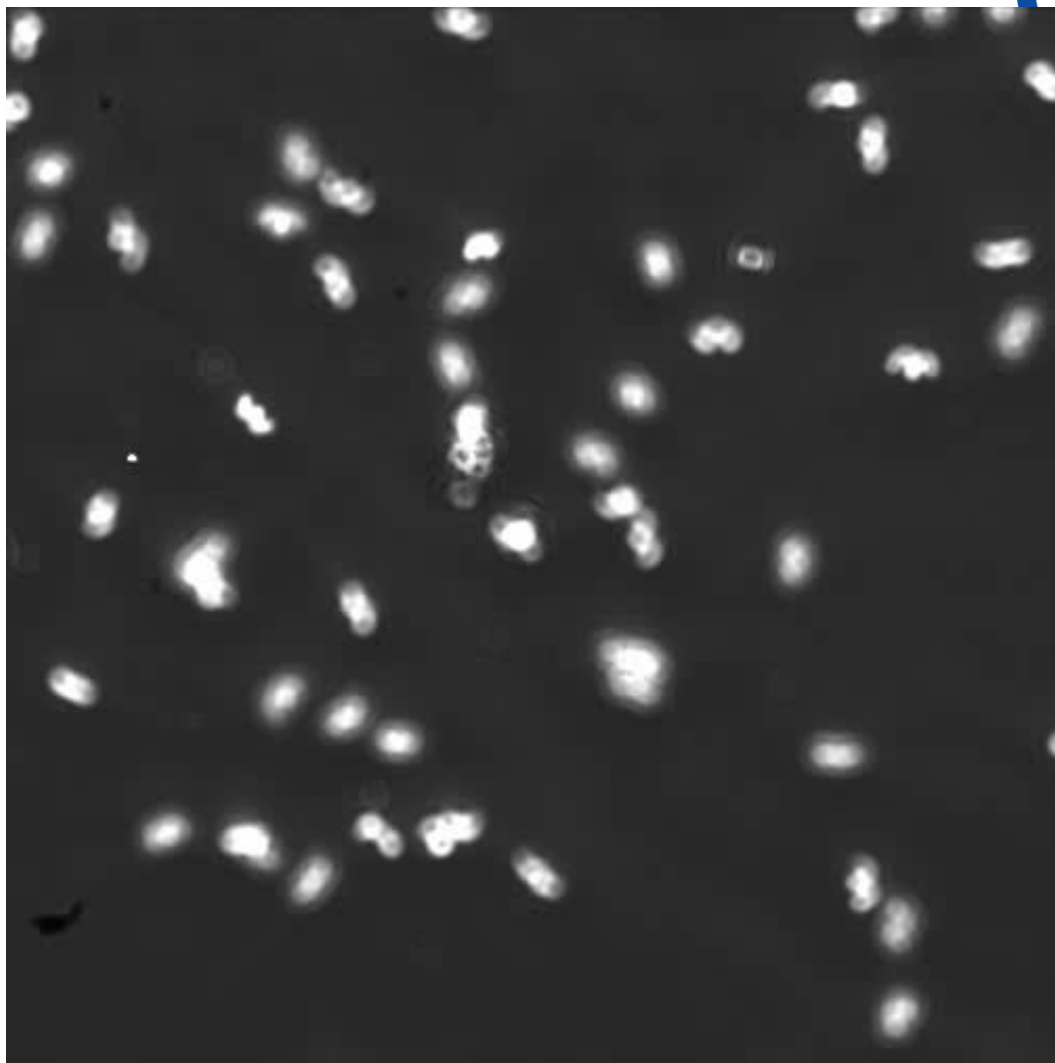
Przy 1 mln/oocyt

1 500 ziaren ikry (78 zł)

Przy 0,5 mln/oocyt

3 000 ziaren ikry (156 zł)

Ruchliwość nasienia świeżego

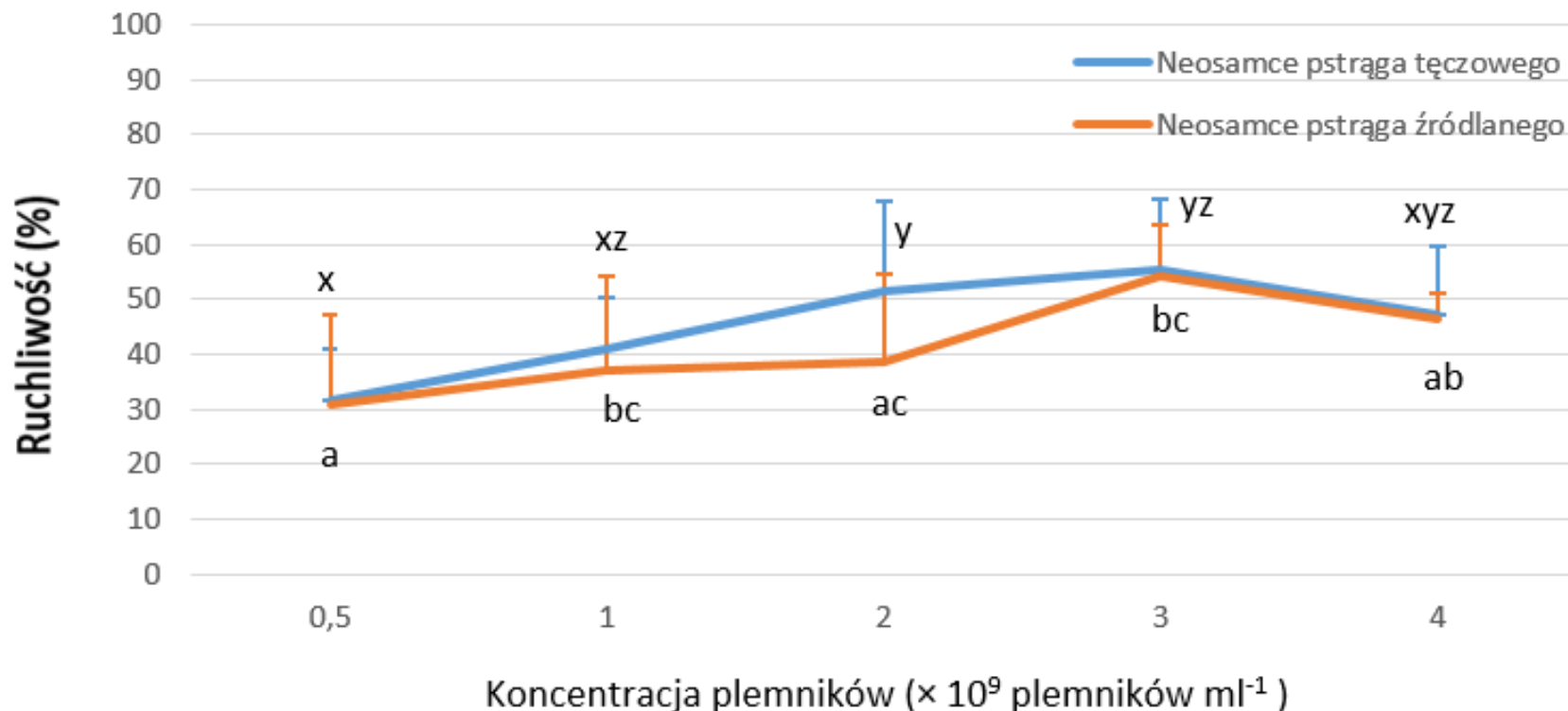


Komputerowa analiza ruchu plemników

- ruchliwość (MOT, %),
- **prędkość ruchu prostoliniowego (VSL, $\mu\text{m s}^{-1}$)**,
- **prędkość ruchu krzywoliniowego (VCL, $\mu\text{m s}^{-1}$)**,
- **prędkość całkowita ruchu (VAP, $\mu\text{m s}^{-1}$)**,
- **amplituda odchylenia główki (ALH, μm)**,
- **liniowość ruchu (LIN, %)**.



Wpływ końcowej koncentracji plemników na skuteczność kriokonserwacji



Rys. 1. Wpływ końcowej koncentracji plemników w słonce na ruchliwość plemników neosamców pstrąga tęczowego i źródlanego po kriokonserwacji. Wyniki przedstawiono jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe (SD). Wartości oznaczone różnymi literami różniły się od siebie statystycznie ($P < 0.05$).

Run date: 10.07.2018 12:30:45

PTA II

Date printed: 13.08.2018 09:22:25

Page 1 of 2

Sample: PTA II

Operator: TheOperator

Device type: 14S

Sample ID:

Freezing program: Dable neosamoe.frz

Version no.: V 2.07

Memo1:

Program date: 05.06.2018 14:16:50

Serial number: 14SL129HB10305B

Memo2:

Listing of freezing program

Step	EndTemp. [°C]	Abs.Time [hh:mm:ss]	Rel.Temp. [°C]	Rel.Time [hh:mm:ss]	Slope [°C/min]	Triggered [y]
0	4,00	00:00:00				
1	4,00	00:15:00	0,00	00:15:00	0,00	
2	-120,00	00:20:00	-124,00	00:05:00	-24,80	
3	-160,00	00:30:00	-40,00	00:10:00	-4,00	

Events at program execution time

EventTime [hh:mm:ss]	Duration [hh:mm:ss]	Description
00:00:00		Fan on.
00:00:00		Excessive temp. deviation.
00:00:00		Buzzer activated.
00:00:13	00:00:05	Cover opened.
00:00:13		Fan off.
00:00:18		Cover closed.
00:00:18		Fan on.
00:00:48		Button 'Stop' pressed.
00:00:49		Fan off.
00:00:49		Buzzer stopped.
00:00:49		Program stopped.

Autoseeding: disabled

Autotrigger: disabled

Failure/restart: Critical temperature range: -15,00 to 5,00 °C
Critical time range: 00:15:00 to 01:00:00 hh:mm:ss
Maximum noncritical power fall time: 00:00:05 hh:mm:ss
Restart temperature: Preset temperature of -20,00 °C

Program: Dable neosamoe.frz

Operator: TheOperator

PTA II_2018-07-10_12-30-45.PRC

Rozrzedzenie nasienia do pożądaney koncentracji

Obliczenie rozcieńczenia.xlsx - Microsoft Excel

Calibri 11

Normalny Dobrze

Dane wyjści... Komórka pot...

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
1		Na 10 ml															
2																	
3																	
4		Koncentracja nasien	Zakładana konc. w słonce					Rozcieńczenia		Objętość nasienia (ml)		Objętość wody		GM stock			
5		10	0,5					20,0		0,50		5,30		4,2			10,00
6		10	0,75					13,3		0,75		5,05		4,2			10,00
7		10	1					10,0		1,00		4,80		4,2			10,00
8		10	1,5					6,7		1,50		4,30		4,2			10,00
9		10	2					5,0		2,00		3,80		4,2			10,00
10																	
11																	
12		9	0,5					18,0		0,56		5,24		4,2			10,00
13		9	0,75					12,0		0,83		4,97		4,2			10,00
14		9	1					9,0		1,11		4,69		4,2			10,00
15		9	1,5					6,0		1,67		4,13		4,2			10,00
16		9	2					4,5		2,22		3,58		4,2			10,00
17																	
18																	
19		15	0,5					30,0		0,33		5,47		4,2			10,00
20		15	0,75					20,0		0,50		5,30		4,2			10,00
21		15	1					15,0		0,67		5,13		4,2			10,00
22		15	1,5					10,0		1,00		4,80		4,2			10,00
23		15	2					7,5		1,33		4,47		4,2			10,00
24																	
25		5,6	0,5					11,2		0,89		4,91		4,2			10,00
26		20	0,75					26,7		0,38		5,43		4,2			10,00
27		15	1					15,0		0,67		5,13		4,2			10,00
28		15	1,5					10,0		1,00		4,80		4,2			10,00
29		12,54	2					6,3		1,59		4,21		4,2			10,00
30																	

Utworzenie banku nasienia linii hodowlanych utrzymywanych w Wylęgarni Dąbie

LINIA	ODNOWA (szt. słomek)	Wykonanie	PRODUKCJA (szt. słomek)	Wykonanie	Potencjalne terminy akcji mrożenia		
PTH	1200		10000		XI-I		
PTHI 6	400	1109 szt. (13 os.)		3325	XI-XII		
PTIII x PTH 7	400	1058 szt (5 os.)			XII-I		
PTHIV	400				XI-XII		
PTHQ	400	5766 szt. (21 os.)			XI-XII		
PTAI	400	476 szt. (5 os.)			III-IV		
PTAII	400				III-IV		
PTAIII	400	326 szt. 7 os.)			XII-I		
PTAIV	400	1496 słomek 0.25 ml, 475 szt. 0.5 ml			IV-V		
PALIAxy			10000		X_XI VII-VIII		
Paliaxx	1000		10000		X_XI		
PZxx	1000		10000	3966	X_XI VII-VIII		
PTJ	400	892 szt. 24 os.)			X_XI		
PTM	400	462 szt. (12 os.)			X_XI		
Cxx	1000		10000		XI-XII		
Cxy (kizucz?)	1000	600 słomek 0.25 ml, 100 słomek 0.5 ml (X 2016)	10000	1754	XI-XII		
PTR	400	379 szt. (7 os.)			I-II		
PTH II gyno		3 os. (rozmrzone na ostatnim wyjeździe)					
PTH IV gyno		3 os. (nieznana liczba słomek)					



eit.europa.eu

Dziękuję za uwagę!



EIT Food is supported by the EIT
a body of the European Union