



Unia Europejska  
Europejski Fundusz  
Morski i Rybacki



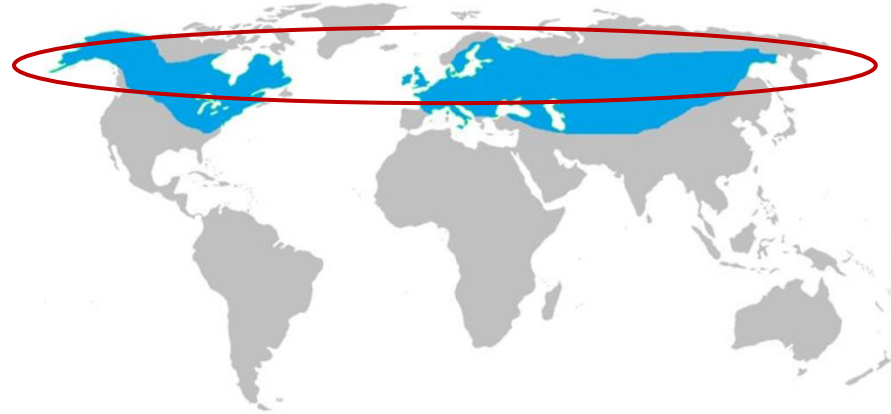
## ***Konferencja Wylęgarnia 11-13 września 2019, Białowieża***

# **Stymulacja hormonalna samców szczupaka – praktyczne aspekty poprawy jakości nasienia w warunkach kontrolowanych**

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

## **Wprowadzenie**

### **Wysoka plastyczność gatunku**



### **Środowisko**

- rola sanitarna – eliminacja gatunków małoceńnych
- rola ekologiczna – eliminacja gatunków planktonożernych
- rola stymulująca – presja na intensywność żerowania innych gatunków (karp, lin)

### **Akwakultura**

- rola biologiczna – produkcja materiału obsadowego (zarybienia)
- rola zdrowotna – wysokie walory smakowe mięsa
- rola rekreacyjna – wędkarstwo

**Rozród szczupaków – warunki kontrolowane**



**Manipulacje z ikrą i nasieniem**



**Efektywność rozrodu – ?**

# Wprowadzenie

## Manipulacje z tarlakami

- odłów
- przeglądanie tarlaków
- transport
- inne manipulacje



<http://www.gminaslawa.pl/2235-w-wodach-slaskiego-jeziora-przybedzie-szczupakow.html>

## Zmienność osobnicza

## Samice



- brak owulacji
- obniżona jakość ikry  
(przejrzenie ikry)

## Samce



- niewielka objętość nasienia
- obniżona jakość nasienia  
(zanieczyszczenie nasienia)

## Strategia działania

### Tarlaki

- minimalizowanie stresu
- właściwy czas pozyskiwania gamet
- właściwy sposób pozyskiwania gamet

### Gamety

- diagnostyka
- przechowywanie krótkookresowe
- kriokonserwacja

### Metody innowacyjne

- wykorzystanie metody ultrasonografii (USG)
- wykorzystanie metody pneumatycznej
- wykorzystanie sztucznej plazmy nasienia  
(brak opracowanej procedury dla szczupaka)

### Metody innowacyjne

- wykorzystanie pH-metrów
- wykorzystanie systemu CASA
- wykorzystanie cytometru
- (brak możliwości zastosowania w warunkach kontrolowanych)

### Metody tradycyjne

- wykorzystanie stymulacji hormonalnej
- wykorzystanie nasienia gonadalnego  
(obniżona jakość plemników)

### Metody tradycyjne

- ocena makroskopowa  
(subiektywność oceny)

## Sukces zapłodnienia – wzrost efektywności rozrodu

### Stymulacja hormonalna

#### Tarlaki

- synchronizacja owulacji/spermacji
- przyśpieszenie dojrzałości gamet
- wzrost objętości pozyskanego nasienia
- ograniczenie ilości samców w rozrodzie
- **brak konieczności uśmiercania ryb**

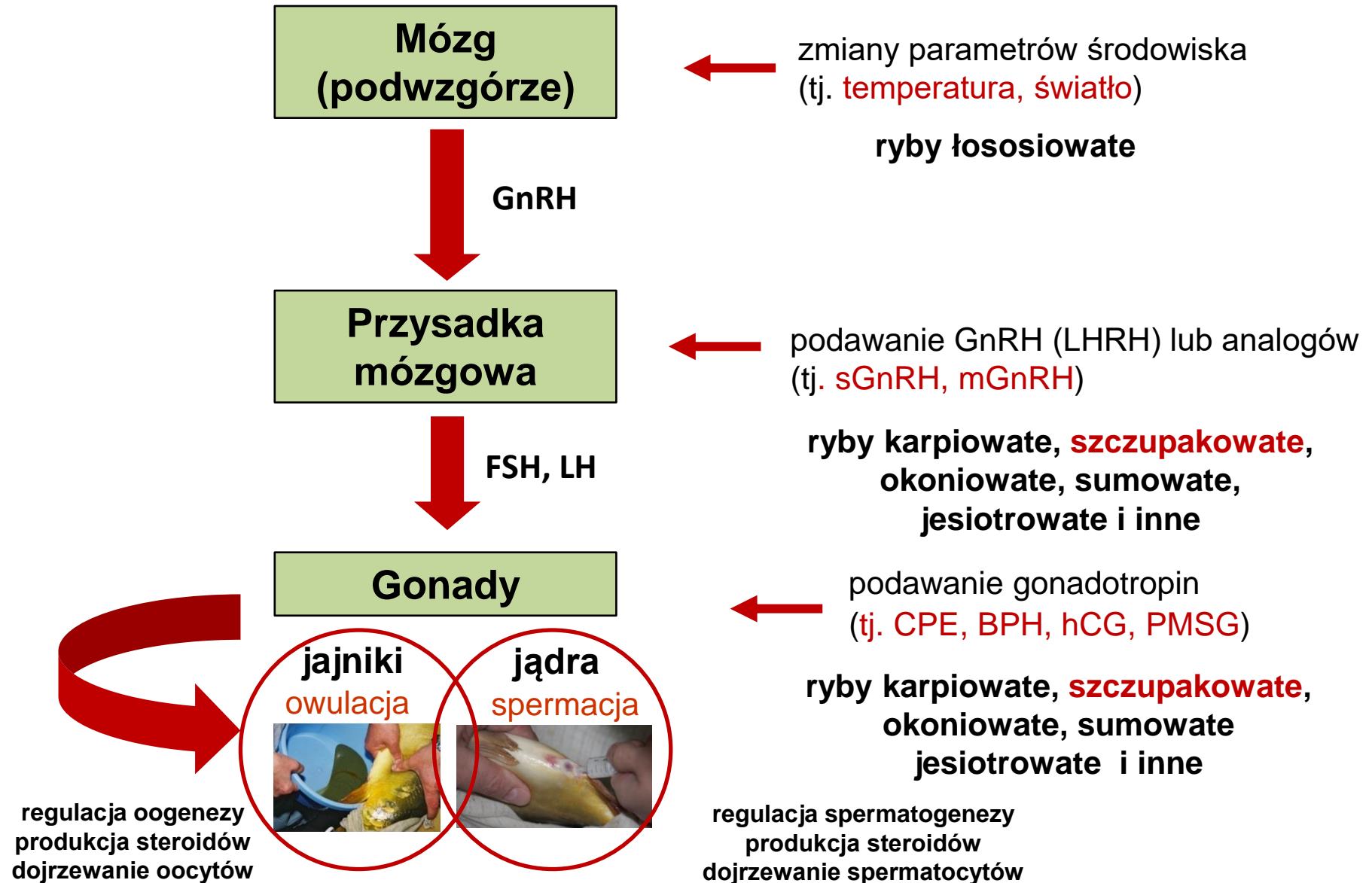
#### Gamety

- brak negatywnego wpływu na morfologię plemników np. u *Brycon amazonicus*
- pozytywny wpływ na dojrzewanie plemników np. u karpia





# Wprowadzenie



## *Materiał i metody: Pochodzenie ryb i manipulacje z tarlakami*

### Tarlaki

- pozyskanie samców (n = 21) w sezonie rozrodczym (marzec)
- transport do hali akwaryjnej
- diagnostyka tarlaków
- aklimatyzacja (temp.  $10 \pm 1^\circ\text{C}$ )



**Samce przetrzymywano w basenach (1000 L; pH: 7,2 – 7,8, zawartość tlenu: 90%) z automatyczną termoregulacją**



## Materiał i metody: Stymulacja hormonalna

### Tarlaki

- indywidualne znakowanie
- ważenie i mierzenie samców
- podział na trzy grupy doświadczalne
- stymulacja dootrzewnowa



**Tabela 1.** Wybrane preparaty hormonalne do stymulowania spermacji szczupaka (*Esox lucius*) w warunkach kontrolowanych, ich komercyjna nazwa, stosowana dawka oraz dostępność. 1 ml Ovarpimu zawiera 20  $\mu$ l sGnRH $\alpha$  oraz 10 mg domperidonu.

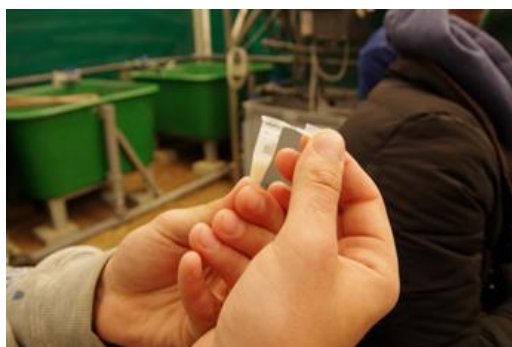
Preparat do stymulacji	Nazwa komercyjna	Ilość ryb	Dawka (m.c)	Dostępność
0.9 % NaCl	kontrola	7	1.0 ml kg <sup>-1</sup>	Sigma-Aldrich (Niemcy)
Przysadka mózgowa karpia	CPH	7	2.0 mg kg <sup>-1</sup>	Argent (USA)
[(D-Arg <sup>6</sup> , Pro <sup>9</sup> NET)-sGnRH+domperidon	Ovaprim	7	0.5 ml kg <sup>-1</sup>	Syndel (Kanada)

**Zastosowane dawki wybranych preparatów hormonalnych stanowiły najmniejszą efektywną dawkę zastosowaną do stymulowania spermacji szczupaków**

## ***Materiał i metody: Pozyskanie nasienia***

### **Tarlaki**

- anestezji (MS-222 w dawce 1,5 gramów na 10 litrów wody)
- ważenie i mierzenie samców
- osuszanie powłok brzusznych
- pozyskiwanie nasienia do sterylnych strzykawek



**Nasienie pozyskano od każdego osobnika indywidualnie  
48 godzin po stymulacji hormonalnej samców**

# Materiał i metody: Pozyskanie nasienia

## Gamety

### ➤ Objętość nasienia i ilości plemników

całkowita objętość nasienia

koncentracja plemników

całkowita ilość plemników

*strzykawki*



*spektrofotometr*



### ➤ Ruchliwość plemników

odsetek plemników ruchliwych

odsetek plemników o ruchu progresywnym

prędkość krzywoliniowa plemników

*system CASA*



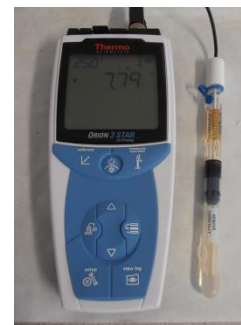
### ➤ Jakość nasienia

pH nasienia

pH plazmy nasienia

ciśnienie osmotyczne plazmy nasienia

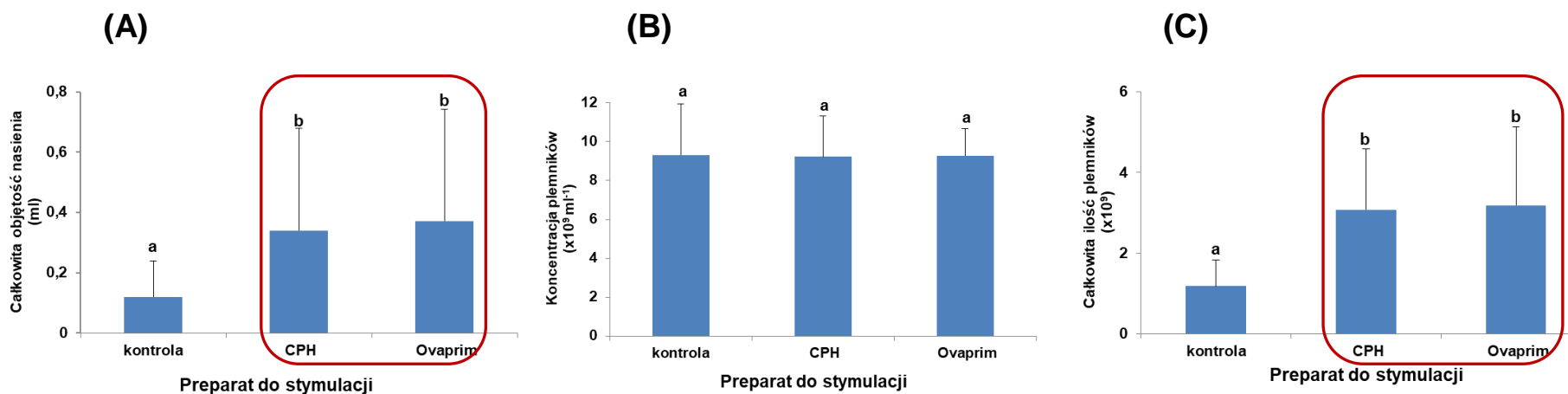
*pHmetr*



*osmometr*

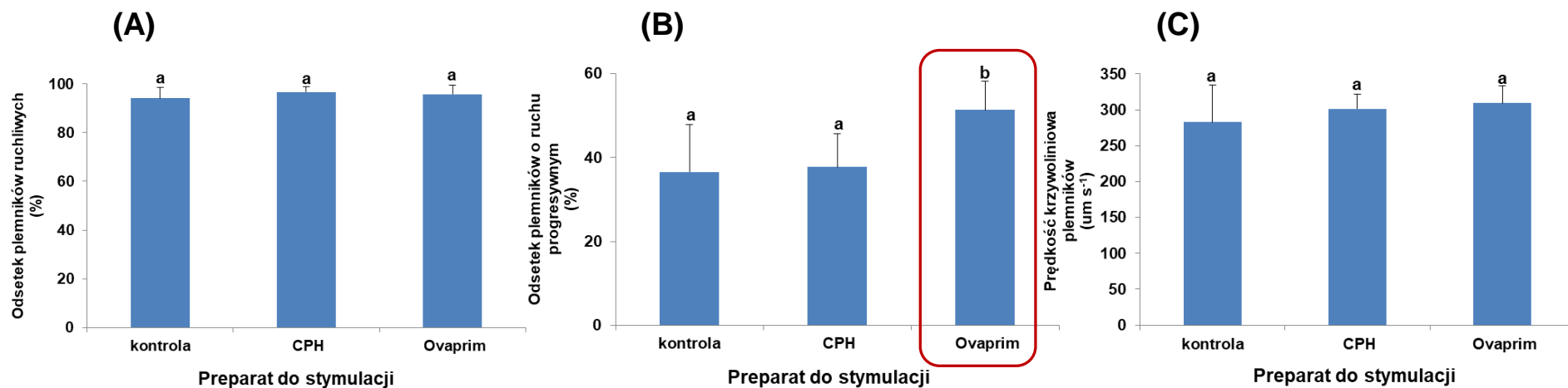


## Wyniki: Objętość nasienia i ilość nasienia



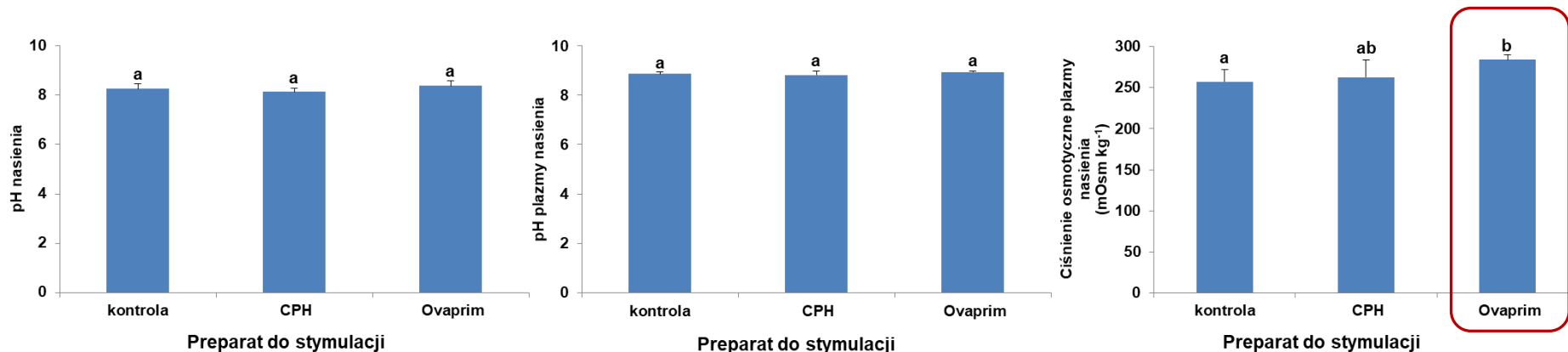
**Rys. 1.** Całkowita objętość nasienia (A), koncentracja plemników (B) oraz całkowita ilość plemników (C) szczupaka po 48 godz. od stymulacji hormonalnej za pomocą CPH (n = 7) oraz Ovapimu (n = 7). Grupę niestymulowaną hormonalnie (kontrola, n = 7) stanowiły samce, którym podawano 0.9 % NaCl. Słupki oznaczone różnymi indeksami literowymi wskazują na istotności różnic w wartościach analizowanych parametrów (P < 0,05).

## Wyniki: Ruchliwość plemników



**Rys. 2.** Odsetek plemników ruchliwych (A), odsetek plemników o ruchu progresywnym (B) oraz prędkość krzywoliniowa plemników (C) szczupaka po 48 godz. od stymulacji hormonalnej za CPH (n = 7) oraz Ovapimu (n = 7). Grupę niestymulowaną hormonalnie (kontrola, n = 7) stanowiły samce, którym podawano 0.9 % NaCl. Słupki oznaczone różnymi indeksami literowymi wskazują na istotności różnic w wartościach analizowanych parametrów (P < 0,05).

## Wyniki: Jakość nasienia



**Rys. 3.** pH nasienia (A), pH plazmy nasienia (B) oraz ciśnienie osmotyczne plazmy nasienia (C) szczupaka po 48 godz. od stymulacji hormonalnej za pomocą CPH (n = 7) oraz Ovapimu (n = 7). Grupę niestymulowaną hormonalnie (kontrola, n = 7) stanowiły samce, którym podawano 0.9 % NaCl. Słupki oznaczone różnymi indeksami literowymi wskazują na istotności różnic w wartościach analizowanych parametrów (P < 0,05).



## **Wnioski**

- niewielka objętość nasienia i ilość plemników o obniżonej wartości ruchu progresywnego wskazuje na brak pełnej dojrzałości nasienia pozyskanego od samców z grupy kontrolnej
- wzrost objętości pozyskanego nasienia oraz ilości plemników **po 48 godz.** w porównaniu do ryb, których nie stymulowano hormonalnie wskazuje na **wysoką skuteczność preparatów hormonalnych tj. CPH oraz Ovaprim w stymulowaniu spermacji szczupaka w warunkach kontrolowanych**
- wzrost odsetka plemników o ruchu progresywnych oraz ciśnienia osmotycznego plazmy nasienia po stymulacji Ovaprimem (w odniesieniu do kontroli) wskazuje na **prawidłową dojrzałość plemników szczupaka**



**możliwość poprawy wydajności reprodukcyjnej samców szczupaka przy wykorzystaniu stymulacji hormonalnej**