



Unia Europejska
Europejski Fundusz
Morski i Rybacki



***XXIV Krajowa Konferencja-Szkolenie Hodowców Karpia,
20-22 lutego 2019, Rzeszów***

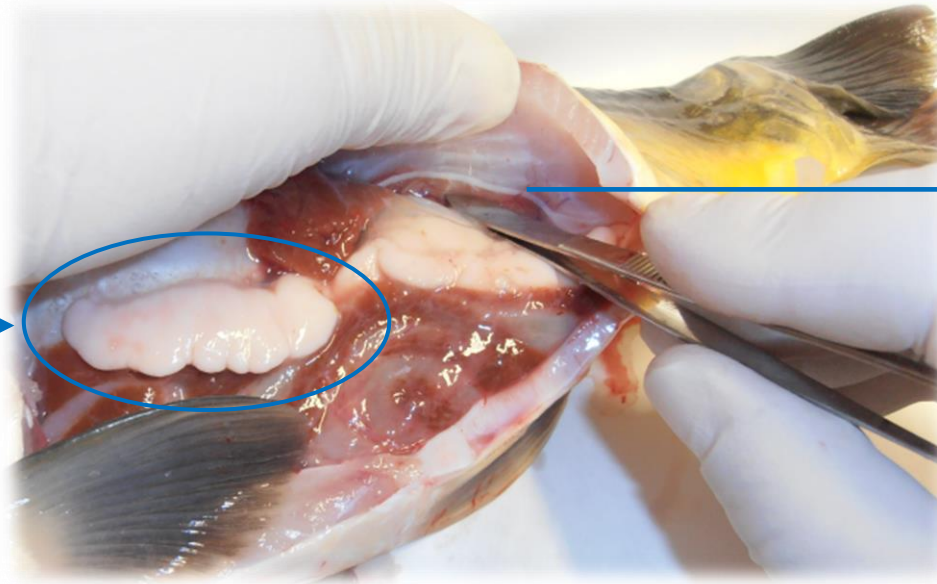
Wykorzystanie sztucznej plazmy nasienia oraz wybranych płynów aktywujących w rozrodzie karpia w warunkach kontrolowanych

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

Układ rozrodczy samców karpia

jądra

spermatogeneza
(formowanie
plemników)



nasieniowody

dojrzewanie
plemników
(nabieranie zdolności
do ruchu)

nasienie



plemniki



**plazma
nasienia**

Plazma nasienia i jej skład

Związki mineralne

- sód
- potas
- wapń
- magnez
- chlor



Związki organiczne

- hormony
- cukry
- lipidy
- witaminy
- antyoksydanty



Związki białkowe

- proteazy
- inhibitory proteaz
- transferyna
- inne



Rola i znaczenie plazmy nasienia w układzie rozrodczym ryb

przechowywanie
płemników

dojrzewanie
płemników

odżywanie
płemników



degradacja
płemników

metabolizm
płemników

integralność
płemników

ochrona
płemników

Zdolność zapładniająca plemników, a czas przechowywania w warunkach *in vitro*



Sztuczna plazma nasienia (ASP) oraz jej właściwości

Artificial Seminal Plasma (ASP) = środowisko imitujące naturalną plazmę nasienia



Wykorzystywana w celu:

- zatrzymanie procesów starzeniowych (degradacyjnych) plemników
- przechowywanie plemników poza ich naturalnym środowiskiem (jądra) do czasu wykorzystania (zapłodnienie)

Brak synchronizacji owulacji/spermacji

- transportu nasienia z miejsca poboru (stawy hodowlane) do miejsca wykorzystania (wylęgarnia)
- wyboru najlepszych prób nasienia

Sztuczna plazma nasienia (ASP) oraz jej właściwości

Naturalna plazma nasienia:

- 2 mM Ca^{2+}
- 0,8 mM Mg^{2+}
- 75 mM Na^+
- 82 mM K^+
- 112 mM Cl^-

pH 8,0; 310 mOsm/kg

Sztuczna plazma nasienia:

- 2 mM CaCl_2
- 1 mM Mg_2SO_4
- 110 mM NaCl
- 40 mM KCl
- 20 mM Tris,

pH 7,5; 310 mOsm/kg

J. exp. Biol. 107, 95–103 (1983)
Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 1983

95

EFFECTS OF OSMOLALITY AND POTASSIUM ON MOTILITY OF SPERMATOZOA FROM FRESHWATER CYPRINID FISHES

By M. MORISAWA

Ocean Research Institute, University of Tokyo, Nakano, Tokyo 164

K. SUZUKI

School of Fisheries Sciences, Kitasato University, Sanriku, Iwate 022-01

H. SHIMIZU

Electrotechnical Laboratory, 1-1-4, Umezono, Sakura-mura, Niihari-gun, Ibaraki 305

S. MORISAWA

Biological Laboratory, St. Marianna University, School of Medicine, 2095, Sugao, Miyamae, Kawasaki 213

AND K. YASUDA

Department of Biology, Japan Women's University, Meiji-dai Bunkyo 2-8-1, 112 Japan

(Received 15 November 1982—Accepted 28 March 1983)

SUMMARY

Spermatozoa of freshwater Cyprinidae (goldfish, carp, crucian carp and dace) remained immotile when the semen was diluted in solutions of NaCl , KCl , mannitol or glucose iso-osmolar to the seminal plasma (300 mosmol kg^{-1}). The spermatozoa became motile in media containing these solutes if the osmolality was lower than that of the seminal plasma, suggesting that motility is suppressed by the osmolality of the seminal plasma in the sperm duct and initiated by a decrease of osmolality upon spawning into fresh water. Potassium was a major component of seminal plasma, having a concentration 20–30 times higher than that in the blood plasma in goldfish and carp. Sodium concentration in seminal plasma was lower than that in blood plasma. Potassium increased viability and speed of sperm movement at a concentration below that in the seminal plasma, whereas sodium and the nonelectrolytes were less effective. Potassium released with spermatozoa at spawning may therefore stimulate motility which has already been initiated by the decrease of osmolality.

INTRODUCTION

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.

Berta Irena Cejko · Ákos Horváth · Tímea Kollár · Eszter Kása · Jolana Luják · Zoran Marinović · Bóla Urbányi · Radosław Kajetan Kowalski

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

Abstract The effect of sodium and potassium concentrations as well as optimal pH on the motility of common carp *Cyprinus carpio* L. sperm during short-term storage in artificial seminal plasma (ASP) was investigated. Sperm was collected from individual males ($n=5$) and each sample diluted tenfold (1:9) in ASP (sperm:extender) containing 2 mM CaCl_2 , 1 mM Mg_2SO_4 and 20 mM Tris at pH 8.0 and supplemented by the following concentrations of sodium and potassium (mM/mM): 0/150, 20/130, 40/110, 75/75, 110/40, 130/20 and 150/0. The osmolality of all ASP variants was set at 310 mOsm kg^{-1} . Sperm motility was measured using a CASA system during 72 h of storage. Immediately after dilution, sperm motility was high (90%) both in each variant and in the control group (fresh sperm). After 72-h storage, the highest sperm motility was noted in ASP containing 110 mM NaCl and 40 mM KCl . No differences were found in the motility of samples preserved within the pH range of 7.0–9.0. Our data suggest that for the short-term storage of common carp sperm, whereas the pH of the solution does not

play a crucial role, a specific potassium concentration of around 40 mM is required.

Keywords Common carp · Sodium · Potassium · pH · Artificial seminal plasma · Sperm preservation · Chilled storage

Introduction

The most important sperm parameter affecting fertilisation capacity in fish is sperm motility. The percentage of motile sperm (MOT, %) and curvilinear velocity of sperm (VCL, $\mu\text{m s}^{-1}$) are considered the most important CASA parameters, since both directly affect the ability of sperm to fertilise eggs (Lahnsteiner et al. 1996; Gage et al. 2004). Moreover, in some fish species such as the European smelt *Osmerus eperlanus* (L.) and crucian carp *Carassius auratus* (L.), lateral head displacement (ALH, μm) may be associated with sperm maturity (Kowalski et al. 2006; Cejko et al. 2013a). Under natural conditions, seminal plasma (SP) maintains the ability of sperm to move and protects them during storage (in the sperm duct) against damage caused by reactive oxygen species (Rutangwa et al. 2004). It has also been postulated that the pH of SP has a significant influence on motility potential in some fish species (Lahnsteiner et al. 1996). Cations such as K^+ and Na^+ play a physical role in maintaining osmotic balance and are important components of a number of enzymes. Moreover, as K^+ is a natural motility inhibitor in salmonid species, its high concentration in SP

B. I. Cejko · R. K. Kowalski (✉)
Department of Genetics and Embryo Biology, Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Science, Olsztyn, Poland
e-mail: rkowalski@pan.olsztyn.pl

Á. Horváth · T. Kollár · E. Kása · J. Luják · Z. Marinović · B. Urbányi
Department of Aquaculture, Institute of Aquaculture and Environmental Safety, Széchenyi István University, Gödöllő, Hungary

Konfekcjonowanie nasienia karpia w ASP - sposoby

pojemniki do hodowli
komórkowych



spowolnienie dynamiki procesów starzeniowych

Konfekcjonowanie nasienia karpia w ASP - stopień rozrzedzenia



**rozrzedzone nasienie
(10x)**



**1 porcja nasienia
(1 ml)**



**9 porcji ASP
(9 ml)**

Konfekcjonowanie nasienia karpia w ASP - dostępność

<https://www.bionovo.pl/k/>

20 lat doświadczenia w branży laboratoryjnej. 30.000 PRODUKTÓW w stałej ofercie.

bionovo
BIORESEARCH EQUIPMENT BIOCHEMICALS

ARTYKUŁY LABORATORYJNE ODCZYNNIKI PROMOCJE NOWOŚCI O FIRMIE KONTAKT

Strona główna / Mikrobiologia, hodowla tkankowa / Butelki, probówki, kolby / Butelki do hodowli / Butelki do hodowli plastikowe / Butelki z PS do hodowli komórkowych

Butelki z PS do hodowli komórkowych

Wyszukaj produkt ...

- Szkło i porcelana
- Plastiki laboratoryjne
- Mikrobiologia, hodowla tkankowa
- Mikroskopia, optyka, oświetlenie
- Przechowywanie, pobór prób, transport
- Mieszanie, wytrząsanie, homogenizacja
- Wirowanie, filtracja, dializa, pompy
- Ogrzewanie, chłodzenie, mrożenie
- Pipetowanie, dozowanie
- Ważenie, mierzenie, kontrola
- Dezynfekcja, czyszczenie, utylizacja
- Ochrona i bezpieczeństwo pracy
- Narzędzia i materiały pomocnicze
- Odczynniki
- Wypzedaż

Butelki z PS do hodowli komórkowych
342,57 zł – 433,77 zł

Butelki przeznaczone do hodowli komórkowych. Wykonane z klarownego polistyrenu. Powierzchnia obrabiana próżniowo zapewnia doskonałą adhezję komórek. Pakowane po 5 szt.

Zobacz inne produkty w tej kategorii:
Butelki do hodowli plastikowe

Miniatura	Nr-Art.	Nazwa	Zamknięcie	Pow. wzrostu	Pojemność	Poj. maks.	Szt./Op.	Cena netto	Ilość
	B-4250	Butelka z PS do hodowli komórkowych	z zakrętką z filtrem	25 cm²	7 ml	60 ml	200 szt.	384,86 zł	- 1 + 
	B-4251	Butelka z PS do hodowli komórkowych	z zakrętką z filtrem	75 cm²	25 ml	250 ml	100 szt.	433,77 zł	- 1 + 
	B-4252	Butelka z PS do hodowli komórkowych	z zakrętką z filtrem	175 cm²	50 ml	650 ml	40 szt.	352,26 zł	- 1 + 
	B-4255	Butelka z PS do hodowli komórkowych	ze szczelną zakrętką	25 cm²	7 ml	60 ml	200 szt.	360,24 zł	- 1 + 
	B-4256	Butelka z PS do hodowli komórkowych	ze szczelną zakrętką	75 cm²	25 ml	250 ml	100 szt.	397,86 zł	- 1 + 
	B-4257	Butelka z PS do hodowli komórkowych	ze szczelną zakrętką	175 cm²	50 ml	650 ml	40 szt.	342,57 zł	- 1 + 

Konfekcjonowanie nasienia karpia w ASP - dostępność

<http://www.biokom.com.pl/>

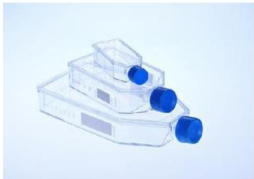
Biokom.com.pl

www.biokom.com.pl/katalog/?data[search_word]=butelki+do+hodowli+komórkowej&data[segment]=3&data[grupa]=przechowywanie-i-transport&data[podgrupa]=przechowywanie-i-transport

BIOKOM
biologia komórki

STRONA GŁÓWNA NEWSLETTERY AKTUALNOŚCI O NAS FIRMY KONTAKT

PLASTIK » PRZECZYSZCZANIE I TRANSPORT » PRZECZYSZCZANIE I TRANSPORT » "BUTELKI DO HODOWLI KOMÓRKOWEJ"


Wysoko modyfikowana i zaawansowana powierzchnia do hodowli komórek wrziliwych


ThinCert™ - to inserty z porowatą membraną do hodowli komórek, za pomocą których można stworzyć układ składający się z 2 kompartymentów, znakomicie symulujący wiele układów in vivo.


Nowa generacja krioprobówek Thermo Scientific Nunc została stworzona dla lepszej organizacji i właściwego zarządzania przechowywanym materiałem w probówkach w niskich temperaturach.

WYSZUKAJ butelki do hodowli komórkowej

plastik Przechowywanie i Transport Przechowywanie i Transport trwa wczytywanie ... ok

NIE ZNALEZIONO SZUKANEJ FRAZY

WYBIERZ SWÓJ REGION

Biokom działa na polskim rynku od 1995 jako dystrybutor, reprezentując ponad 20 renomowanych firm z całego świata. Nasza oferta odczynników i aparatury dedykowana jest naukom biologicznym i biomedycznym.

Oddział Warszawa

dr Dariusz Rutkowski
Przedstawiciel regionalny

tel. 609 527 979
e-mail: rutkowski@biokom.com.pl

Jakość nasienia i możliwości jego poprawy w warunkach kontrolowanych – rola ASP

różnice w jakości nasienia



- indywidualna zmienność osobnicza (osiąganie dojrzałości płciowej)
- zanieczyszczenie nasienia moczem (przedwczesna aktywacja plemników)



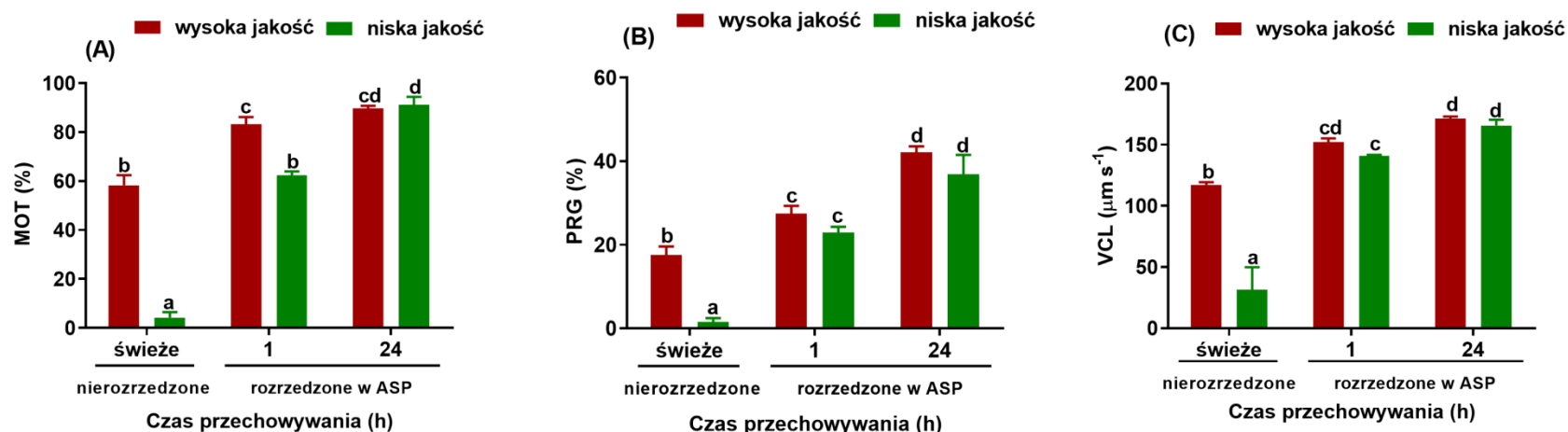
**Brak sukcesu
w zapłodnieniu**



Jakość nasienia i możliwości jego poprawy w warunkach kontrolowanych – rola ASP

nasienie wysokiej jakości: 55-65%

nasienie niskiej jakości: 5-10%

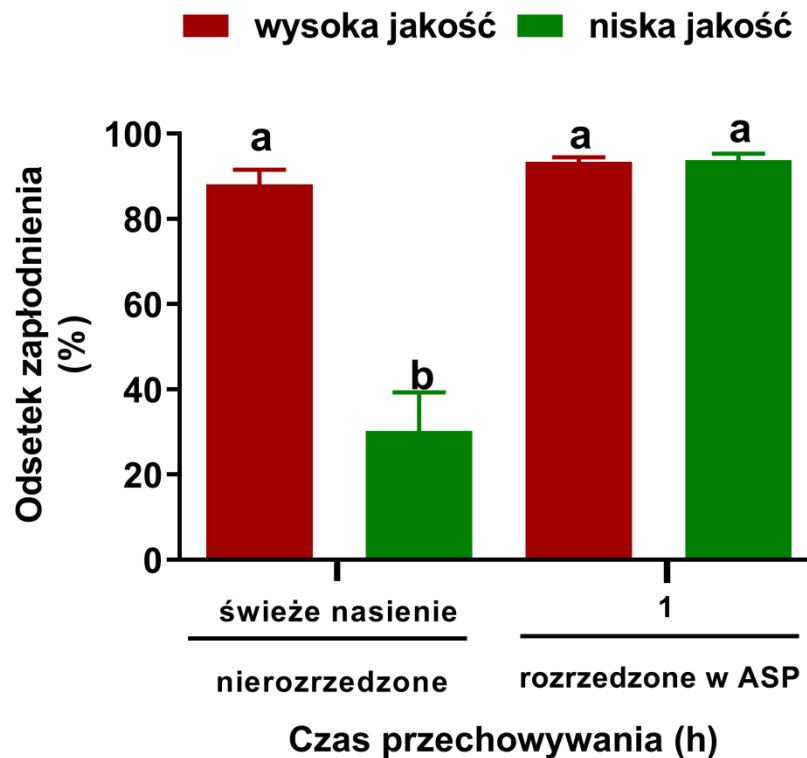


Rys. 1. Odsetek plemników ruchliwych (A), ruch progresywny (B) oraz prędkość krzywoliniowa (C) plemników karpia w próbach wysokiej oraz niskiej jakości rozrzedzonych w ASP i przechowywanych w czasie 1 i 24h. Nasienie świeże stanowiły próby nierozrzedzone w ASP. Słupki oznaczone różnymi indeksami literowymi wskazują na istotności różnic w wartościach analizowanych parametrów ($P < 0,05$).

Efektywność zapłodnienia ikry nasieniem rozrzedzonym - rola ASP

nasienie wysokiej jakości: 55-65%

nasienie niskiej jakości: 5-10%



Rys. 2. Odsetek zapłodnienia ikry karpia nasieniem świeżym o wysokiej oraz niskiej jakości oraz nasieniem uprzednio rozrzedzonym w ASP inkubowanym w czasie 1h. Słupki oznaczone różnymi indeksami literowymi wskazują na istotności różnic w wartościach analizowanych parametrów ($P < 0,05$).

Płyny aktywujące/zapładniające, a efektywność rozrodu

Pływ Woynarovicha

Pływ Lahnsteinerja

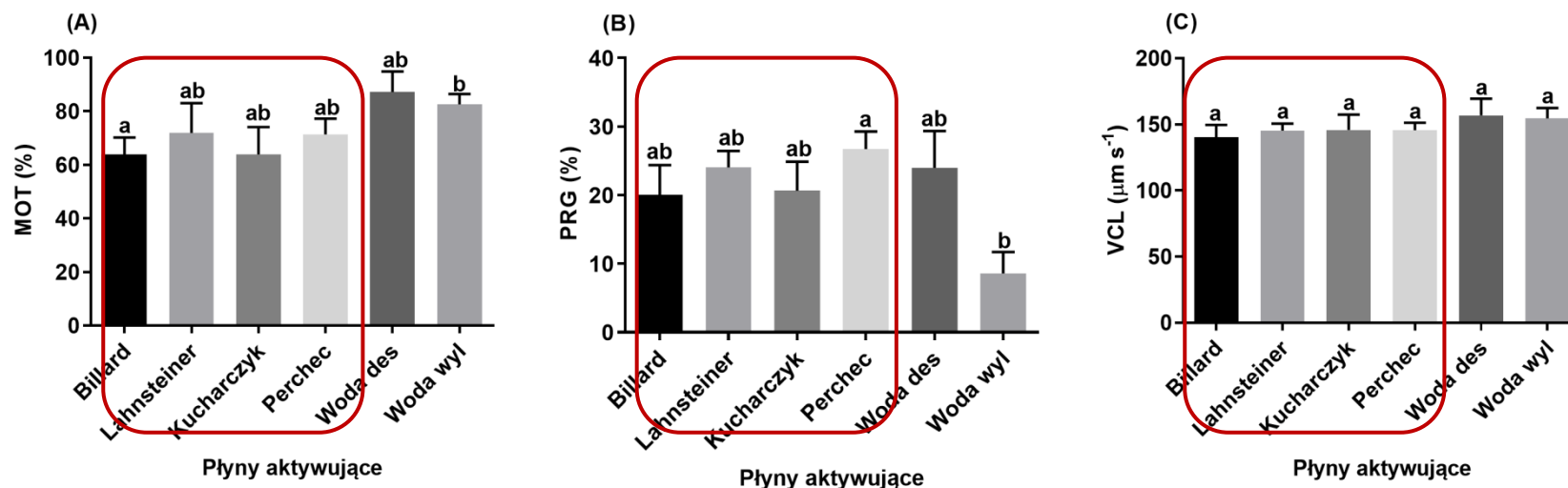
Woda wylęgarniana

Tabela 1. Wybrane płyny aktywujące (AS) o różnym składzie (mM), pH oraz osmolalności wykorzystane do aktywacji plemników karpia oraz zapłodnienia ikry w warunkach kontrolowanych. * Każdy płyn aktywujący zawiera 0.5% albuminę surowicy bydlęcej (BSA).

Płyny aktywujące						
Skład	AS 1	AS 2	AS 3	AS 4	AS 5	AS 6
NaCl	68	100	86	45		
KCl	-	-	-	5		
Tris	-	10	-	30		
Mocznik	50	-	-	-		
pH	7.7	9.0	7.4	8.0	7.3	7.0
Osmolalność	180	200	167	160	3.0	8.0
Cytacja	Billard i in. (1995)	Lahnsteiner i in. (1996)	Kucharczyk i in. (2008)	Perchec i in. (1996)	Woda destylowana	Woda wylęgarniana

Płyny aktywujące/zapładniające, a efektywność rozrodu

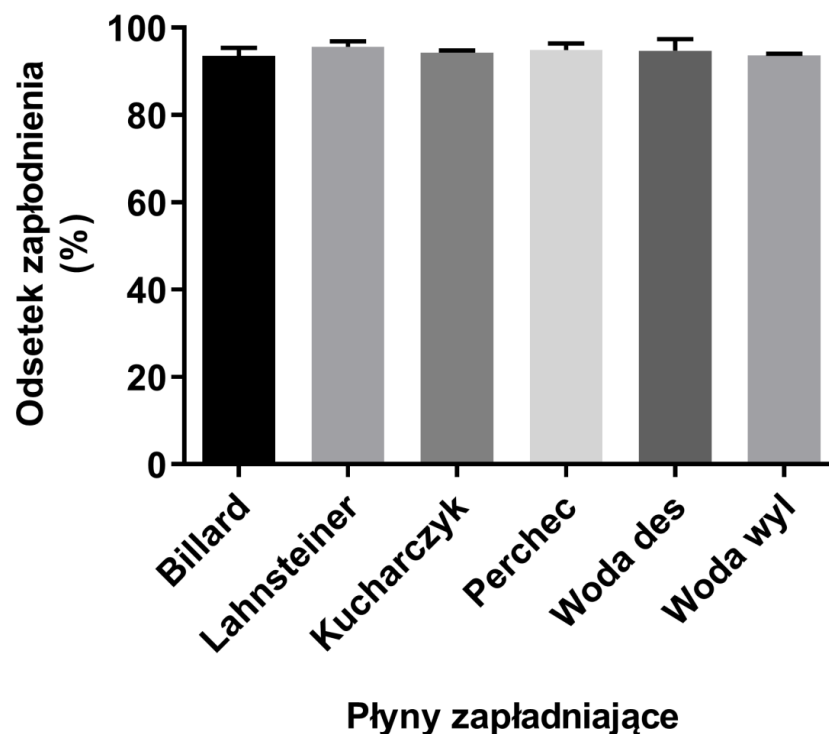
Plemniki karpia można aktywować buforami o pH w zakresie 7.4 – 9.0 i osmolalnością w zakresie 190 – 200 mOsm/kg



Rys. 3. Odsetek plemników ruchliwych (A), ruch progresywny (B) oraz prędkość krzywoliniowa (C) plemników karpia po aktywacji wybranymi płynami. Słupki oznaczone różnymi indeksami literowymi wskazują na istotności różnic w wartościach analizowanych parametrów ($P < 0,05$).

Płyny aktywujące/zapładniające, a efektywność rozrodu

Bufory do aktywacji plemników karpia można wykorzystać do zapłodnienia ikry



Rys. 4. Odsetek zapłodnienia ikry karpia po aktywacji wybranymi płynami ($P > 0,05$).

Wnioski

- w warunkach wylęgarni **ASP** wykorzystać można do poprawy jakości nasienia karpia przed jego wykorzystaniem (zapłodnienie)
- nasienie winno być rozrzedzone w ASP w stosunku 1:9 (10x)
- nasienie należy przechowywać w ASP w pojemnikach zapewniających im odpowiednią wymianę gazową oraz cienką warstwę
- nasienie należy przechowywać w ASP w temperaturze obniżonego metabolizmu (+4°C)
- nasienie rozrzedzone w ASP doprowadza do poprawy jego jakości już w czasie 1 godz. Wzrost ten jest obserwowany przede wszystkim w przypadku nasienia o niskiej jakości
- nasienie rozrzedzone w ASP jest zdolne do zapłodnienia ikry na poziomie 90%