

Česká technologická platforma pro zemědělství
Česká zemědělská univerzita v Praze

Česká technologická platforma pro zemědělství ve spolupráci s Českou zemědělskou univerzitou v Praze

Vás srdečně zvou na

seminář

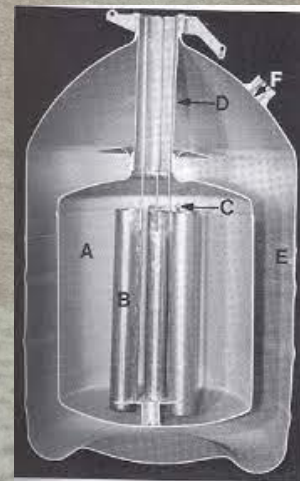
MODERNÍ BIOTECHNOLOGICKÉ METODY PRO PRECIZNÍ A EFEKTIVNÍ REPRODUKCI U DOJENÉHO SKOTU

Laboratorní diagnostika rozmražených IDs býků



Proč posuzovat kvalitu spermatu

- Moderní reprodukce u hospodářských zvířat = umělé oplodnění
- Umělá inseminace = výroba mnoha ID z odebraného ejakulátu
- Manipulace s ejakulátem (ředění, chlazení, **zmrazování & rozmrazování**) = to vše může snížit kvalitu spermií



Proč posuzovat kvalitu spermatu

➤ Optimalizace procesu kryokonzervace spermatu

Original Paper Czech Journal of Animal Science, 68, 2023 (2): 64–71
<https://doi.org/10.17221/223/2022-CJAS>

Low-density lipoprotein supplementation improves the quality of Holstein bulls' insemination doses

JAN PYTLÍK*, RADIM CODL, JAROMÍR DUCHÁČEK, FILIPP GEORGIIJEVIČ SAVVULIDI, MAREK VRHEL, LUDĚK STÁDNÍK

Department of Animal Science, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Prague, Czech Republic
Corresponding author: pytlík@af.czu.cz

Abstract: Pytlík J., Codl R., Ducháček J., Savvulidi E.G., Vrhel M., Stádník L. (2023): Low-density lipoprotein supplementation improves the quality of Holstein bulls' insemination doses. Czech J. Anim. Sci., 68: 64–71.

Original Paper Czech Journal of Animal Science, 67, 2022 (3): 75–86
<https://doi.org/10.17221/196/2021-CJAS>

Effect of extender on the quality and incubation resilience of cryopreserved Holstein bull semen

JAN PYTLÍK¹*, FILIPP GEORGIIJEVIČ SAVVULIDI¹, JAROMÍR DUCHÁČEK¹, RADIM CODL¹, MAREK VRHEL¹, SZABOLCS NAGY², LUDĚK STÁDNÍK¹

¹Department of Animal Science, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Prague, Czech Republic
²Institute of Animal Sciences, Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Georgikon Campus, Keszthely, Hungary
Corresponding author: pytlík@af.czu.cz

Abstract: Pytlík J., Savvulidi E.G., Ducháček J., Codl R., Vrhel M., Nagy S., Stádník L. (2022): Effect of extender on the quality and incubation resilience of cryopreserved Holstein bull semen. Czech J. Anim. Sci., 67: 75–86.

Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.75, n.5, p.771-786, 2023

Impact of adding different concentrations of IGF-I and insulin to the semen extender on bull sperm quality post-cryopreservation

[Impacto da adição de diferentes concentrações de IGF-I e insulina ao diluidor de sêmen sobre a qualidade espermática bovina após a criopreservação]

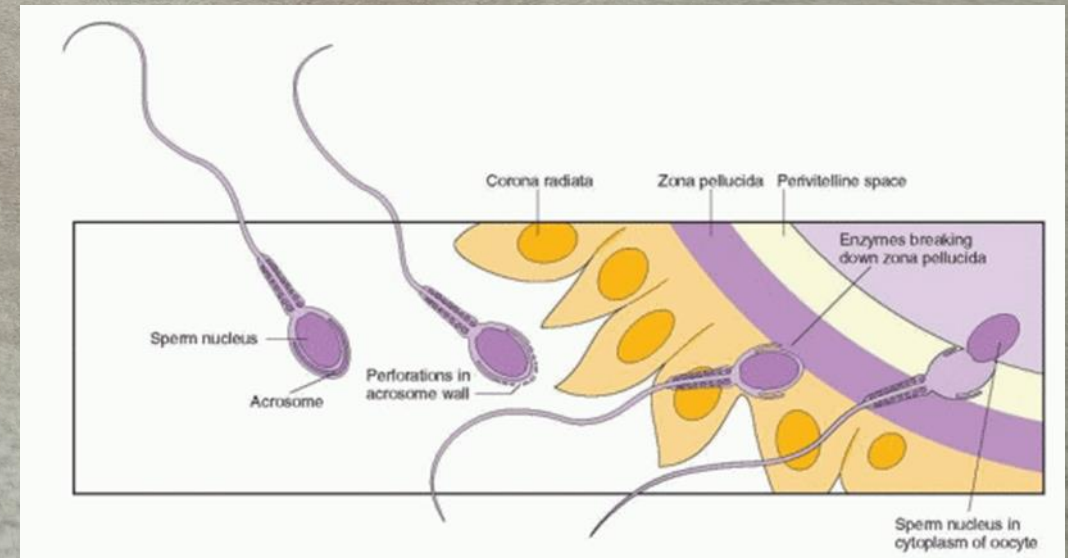
S.C.C. Pinto¹, F.A. Souza², R.P. Arruda¹, M.B.R. Alves¹, L. Batissaco¹, L.N. Garcia-Oliveros¹, M.S. Passarelli¹, L.C. Carneiro¹, E.C.C. Celeghini¹

¹Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, Brasil
²Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

Co je kvalita spermatu?

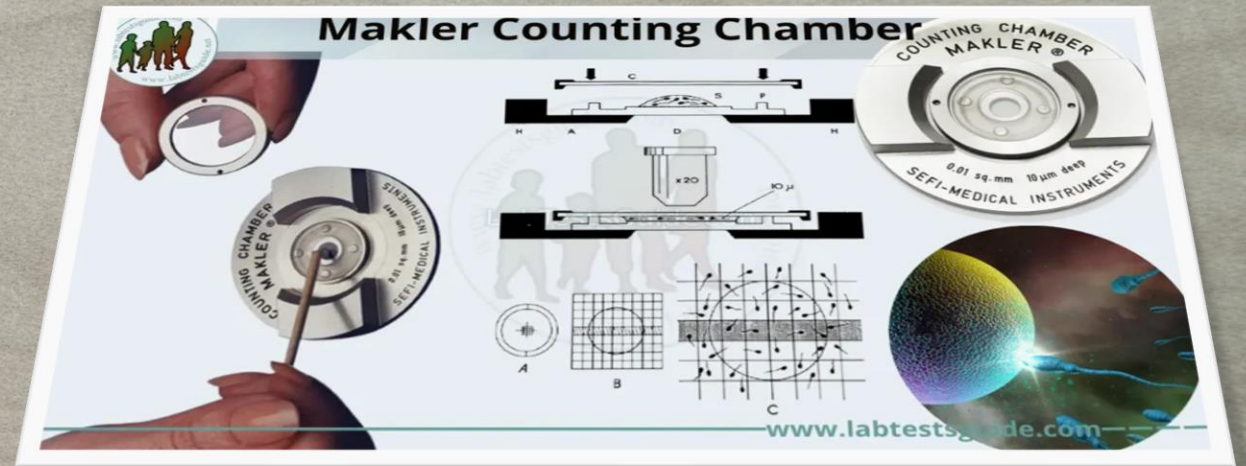
✓ souvislosti s oplodněním:

- Transport uvnitř samičího reprodukčního traktu do místa oplodnění
- Interakce spermie-oocyt



Transport

- Koncentrace spermií (mil/mL)
- Procento pohyblivých spermií

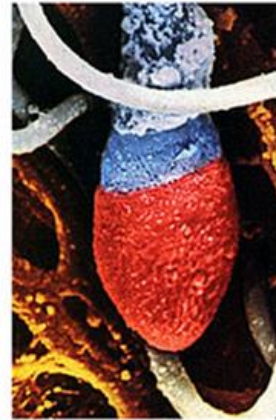


Interakce

- Integrita plazmatické membrány a akrozomu spermii
- Integrita DNA spermii

Acrosome Reaction

The Acrosome Reaction is required for egg fertilization based on animal and human research

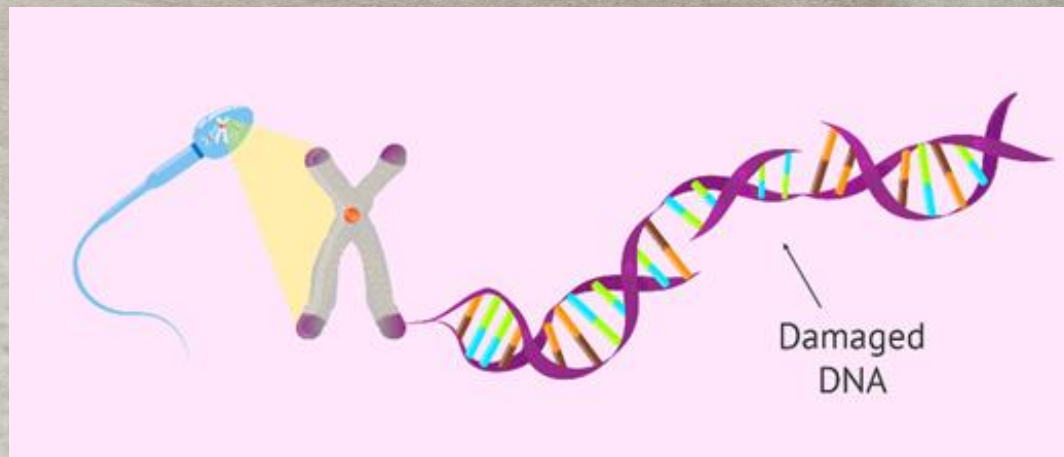


Electron micrograph (colorized) of the acrosome reaction on the surface of the egg shell (zona pellucida)

From L. Nilsson, A Child is Born, © Bantam Doubleday, 1990

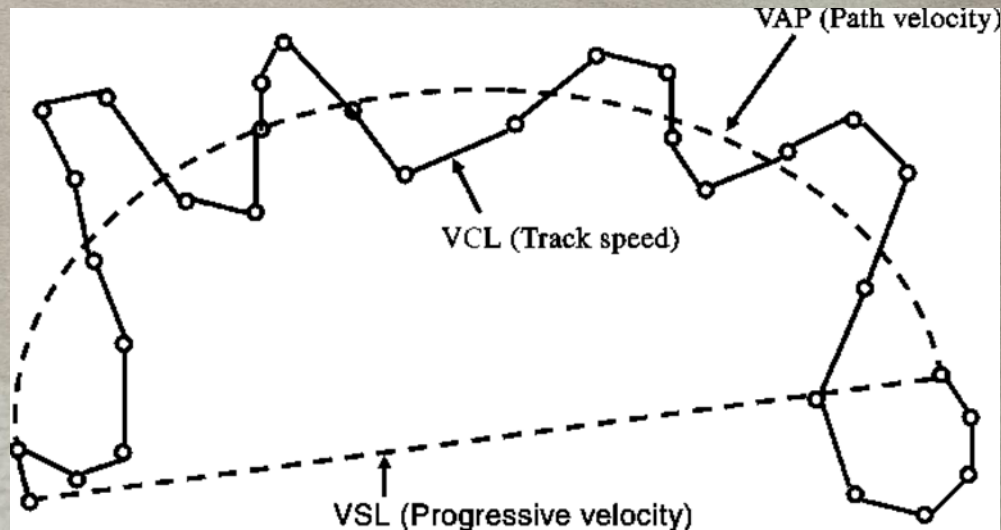
8

poma
FERTILITY



Computer Assisted Sperm Analysis (CASA)

- Hodnocené parametry
 - Concentration
 - Morfologie (dimenzionální údaje hlavičky a ocasu)
 - Pohyblivost celková a progresivní, %
 - Detailní kinematická analýza pohyblivosti (vz, ind)

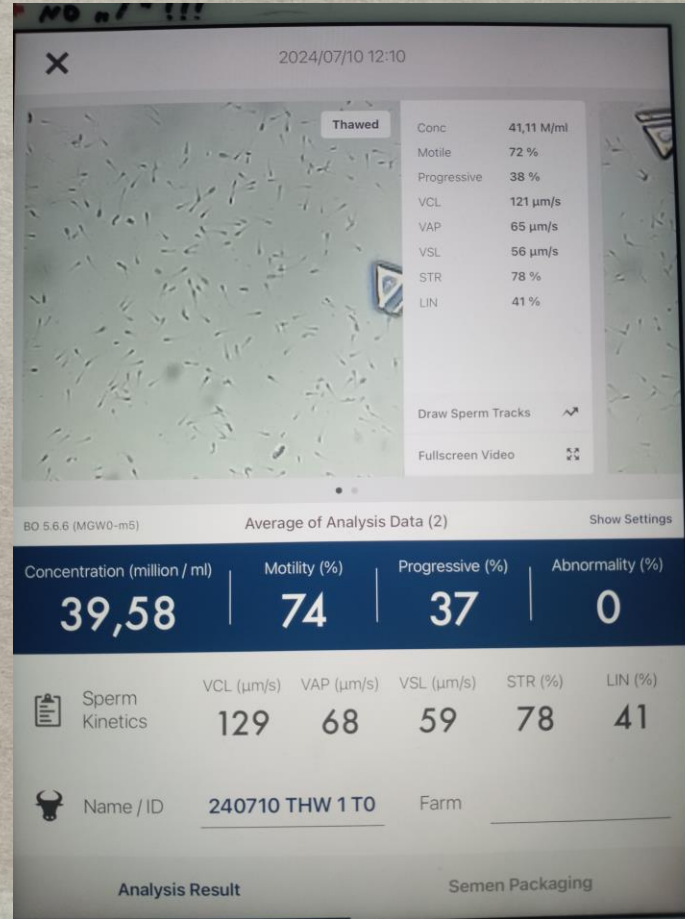
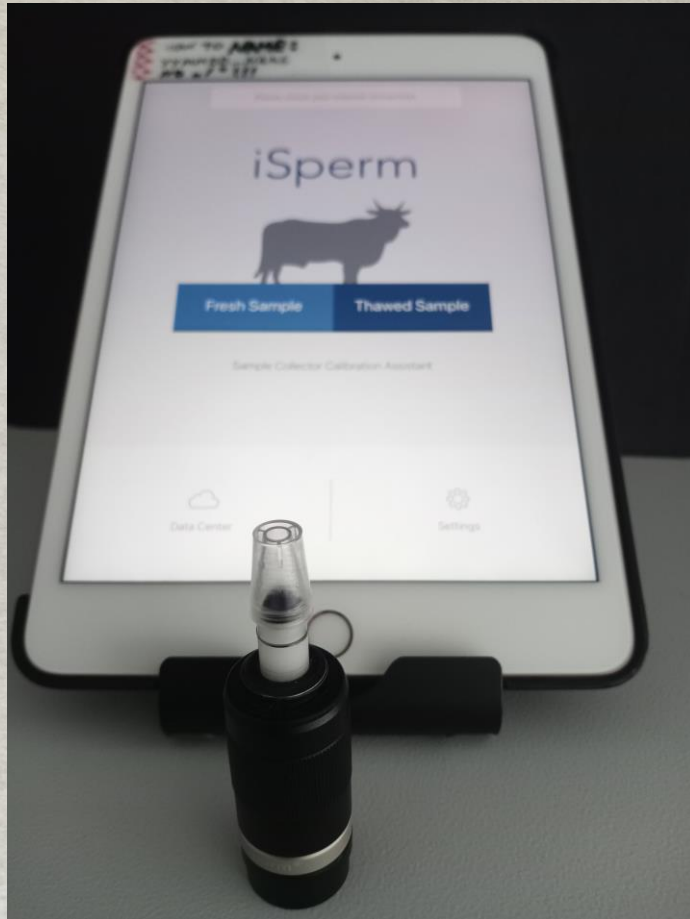


Computer Assisted Sperm Analysis (CASA)

Kinematická analýza pohyblivosti:

- VAP: velocity average path, $\mu\text{m/s}$
- VCL: velocity curved line, $\mu\text{m/s}$
- VSL: velocity straight line, $\mu\text{m/s}$
- STR: straightness, VSL/VAP, \%
- LIN: linearity, VSL/VCL, \%
- ALH: amplitude of lateral head displacement, μm
- BCF: beat cross frequency, Hz
- DAP: distance average path, μm
- DCL: distance curved line, μm
- DSL: distance straight line, μm
- WOB: wobble, VAP/VCL, \%

➤ mCASA: (mobile) smartphone-based CASA



- mCASA: (mobile) smartphone-based CASA



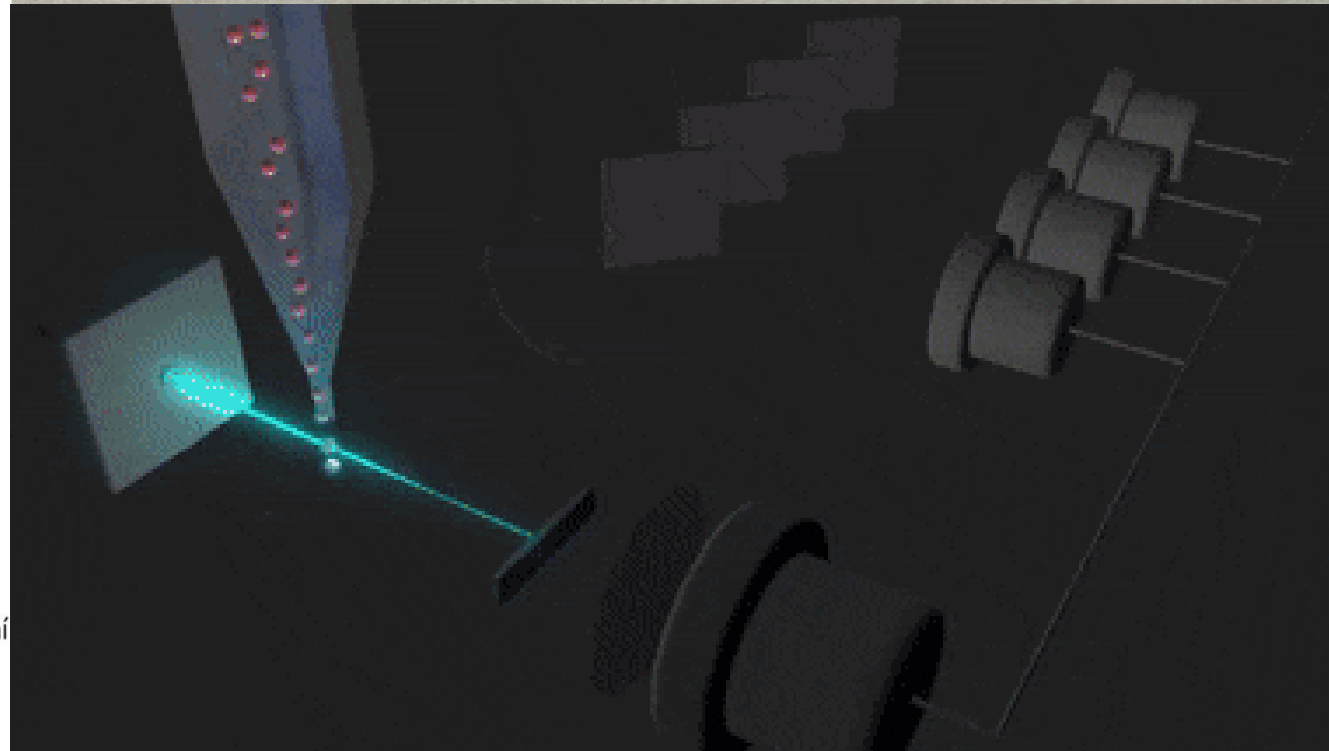
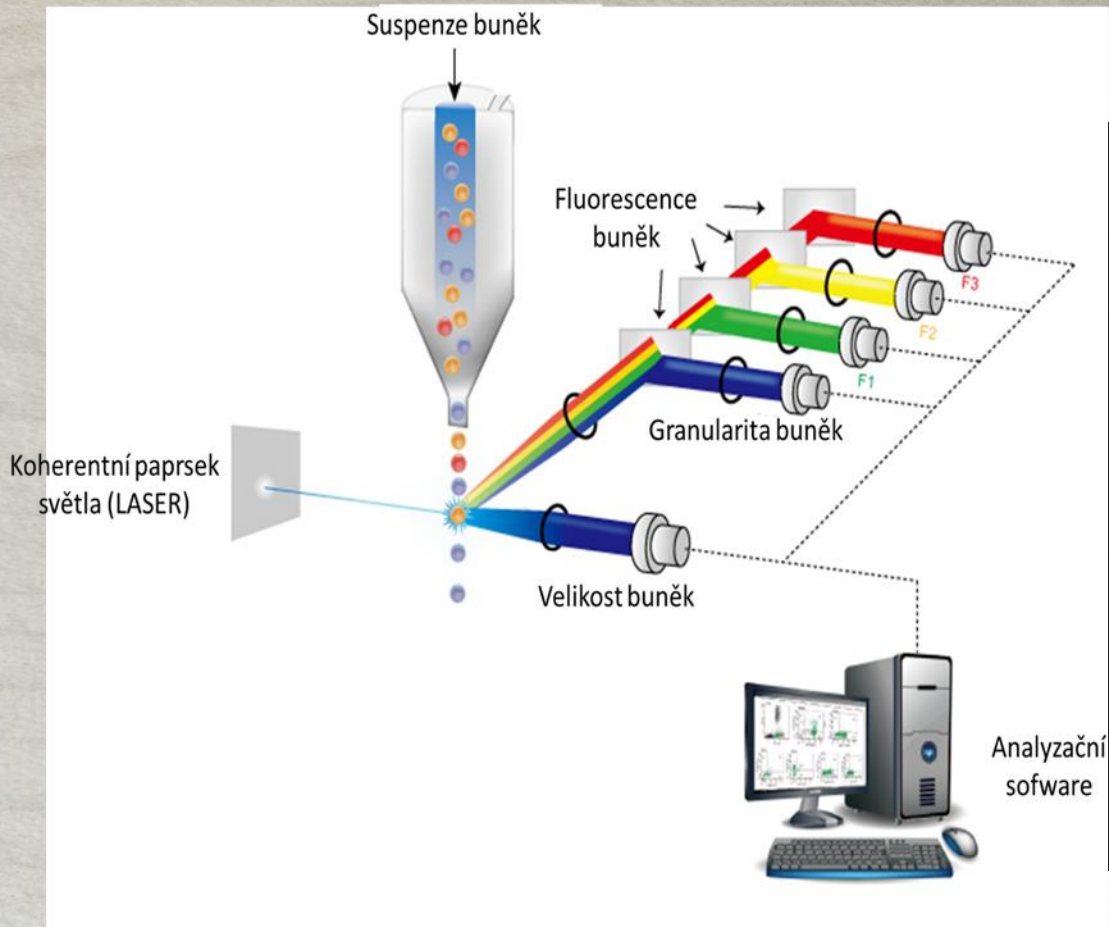
Úskalí metody CASA

- Salamon and Maxwell (2000) poukazují na fakt, že rozmrazené beraní semeno s motilitou kolem 40 - 60 %, obsahuje pouze 20 - 30 % biologicky nepoškozených spermií
- = pohyblivé spermie **nelze** automaticky definovat jako spermie schopné fertilizace

Průtoková cytometry (flow cytometry)

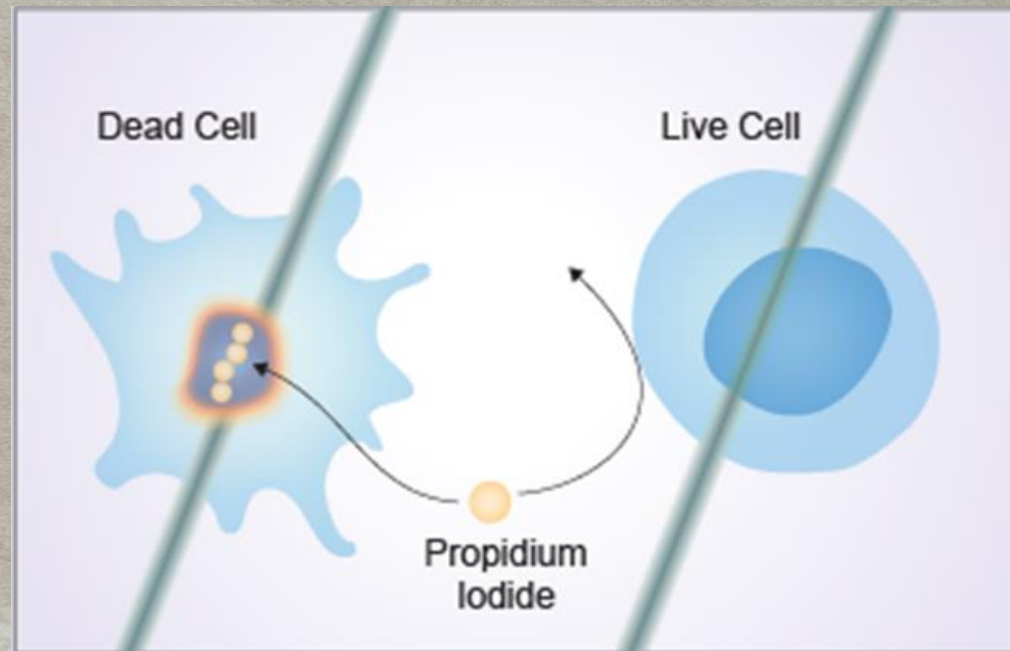


Průtoková cytometry (flow cytometry)



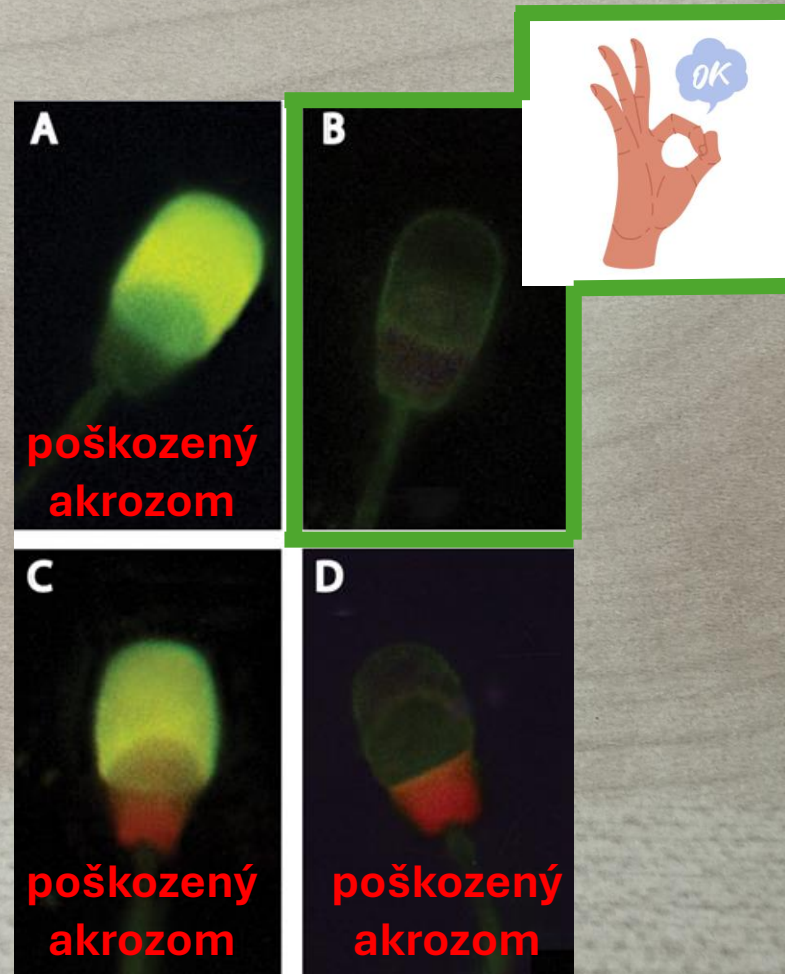
Fluorescenční sondy pro průtokovou cytometrii

- Fluorescenční barvivo Propidium jodid



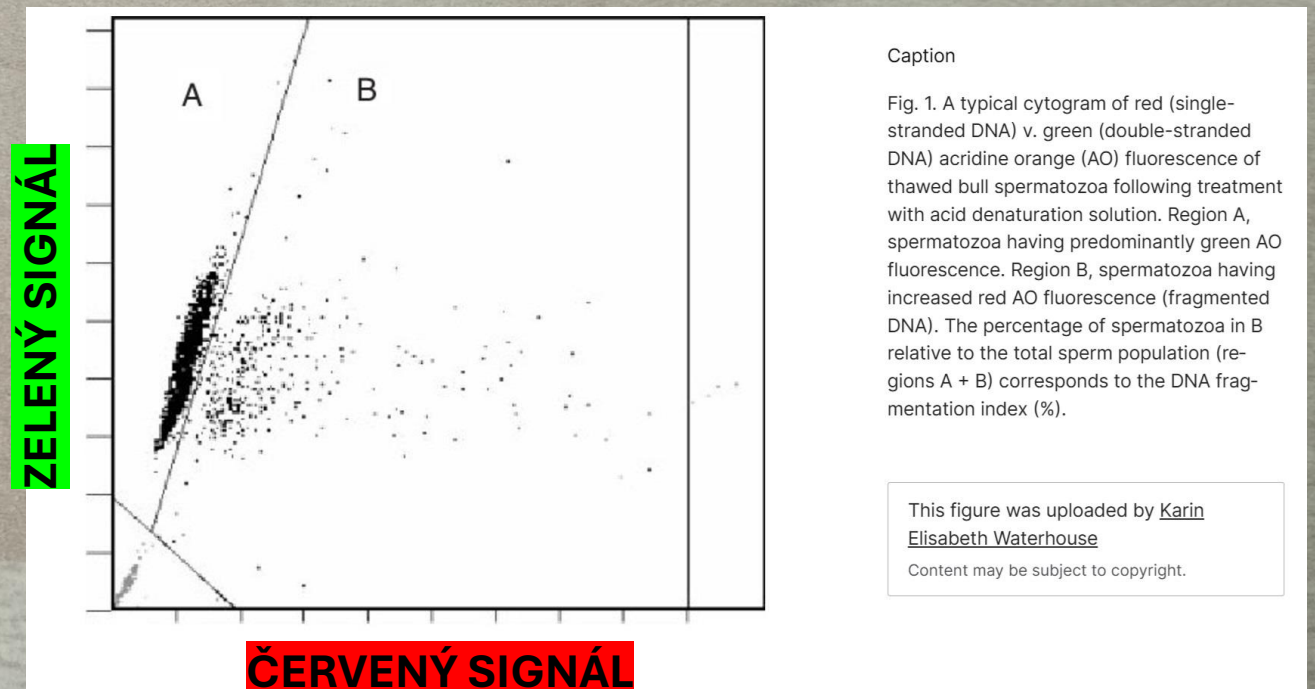
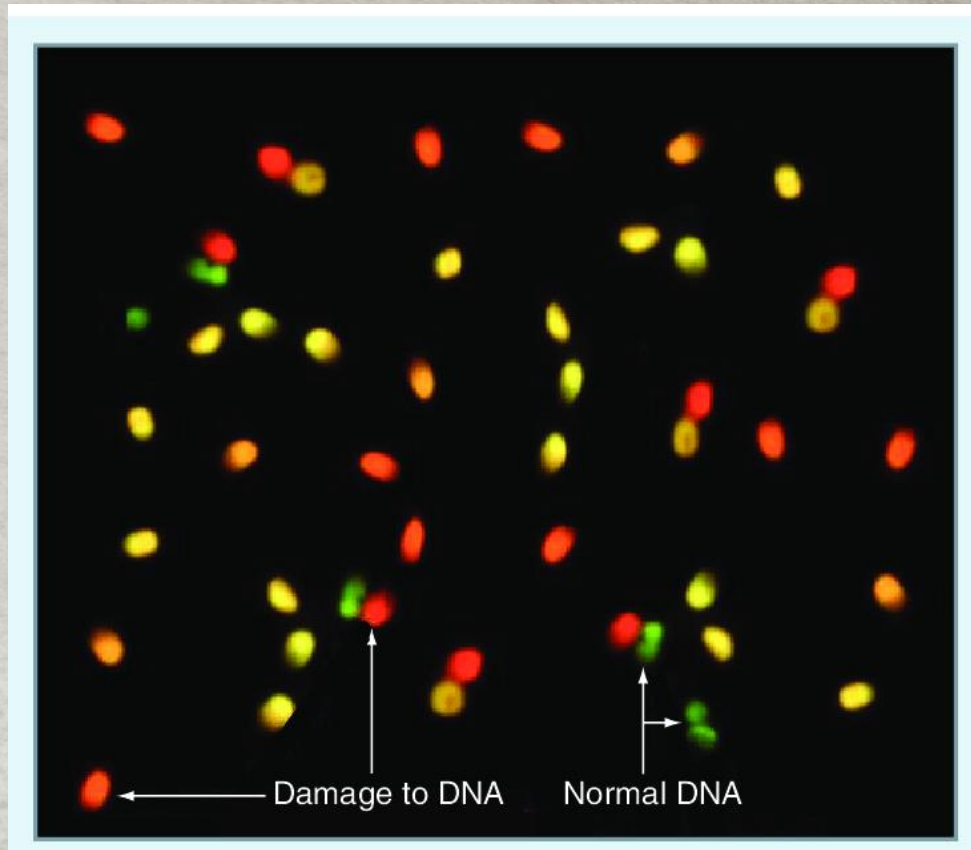
Fluorescenční sondy pro průtokovou cytometrii

- Lektin PNA z arašídů *Arachis hypogaea* (značený fluorescein isothiokyanátem)



Fluorescenční sondy pro průtokovou cytometrii

- **Akridinová oranž** metachromatický fluorochrom: zelená = intaktní DNA; červená = poškozená DNA



Průtoková cytometrie: výhody

- **Rychlost analýzy** (až několik tisíc buněk za sekundu)
- **Přesnost měření**
- **Objektivita (ale...)**



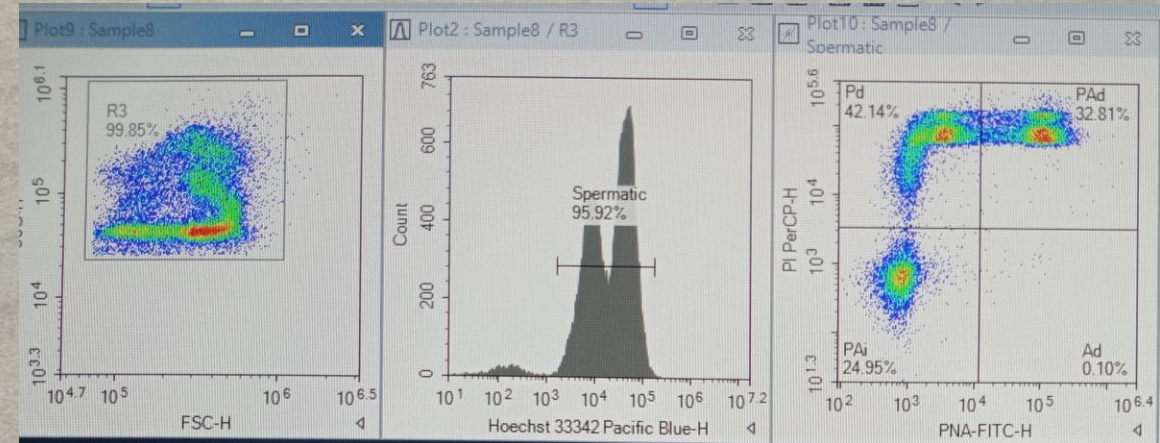
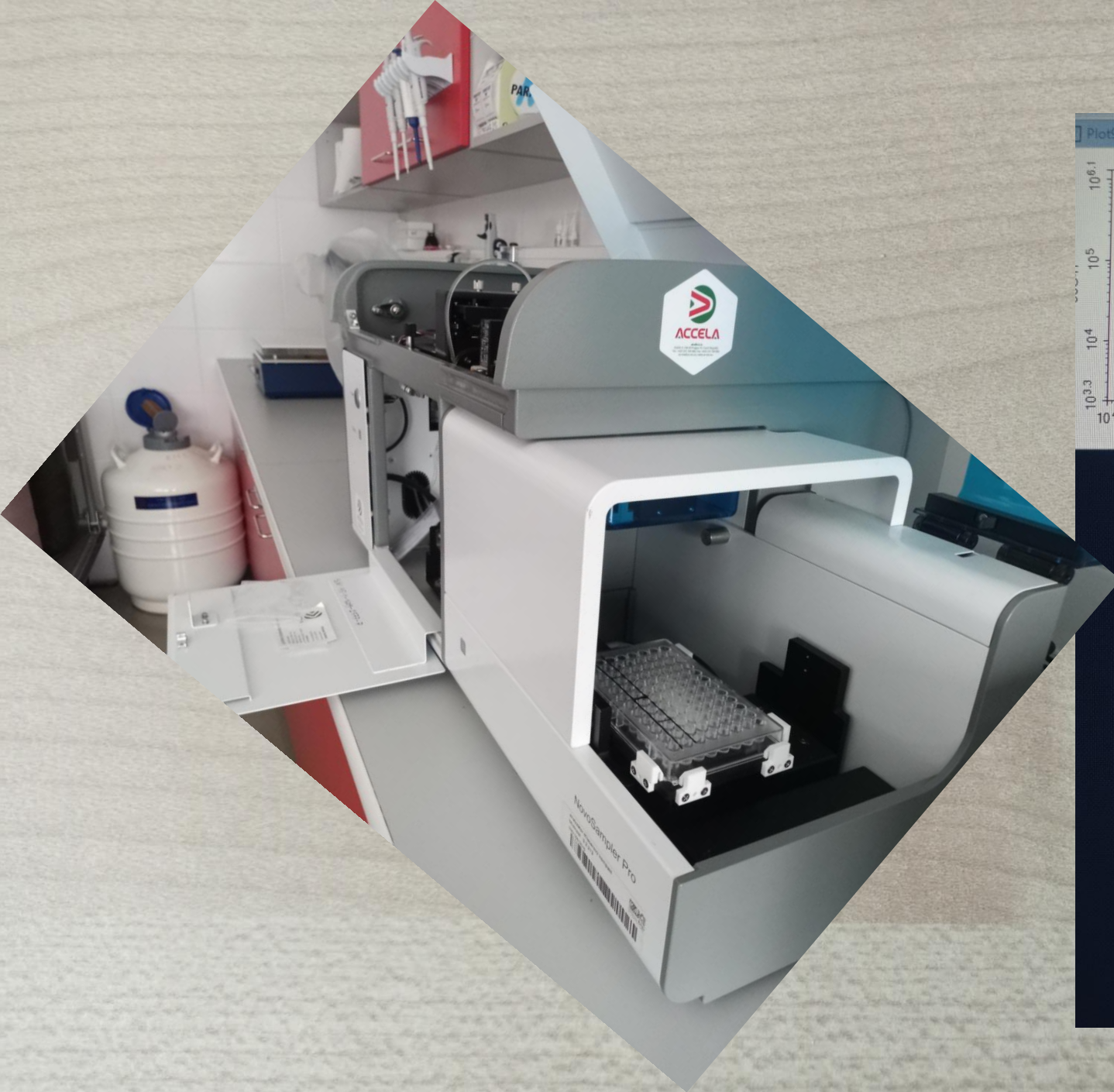


Table16

Well ID	Run Time	PAi % Parent	Pd % Parent	PAd % Parent
C1	7/10/2024 12:09...	9.01%	50.24%	40.50%
C2	7/10/2024 12:11...	24.98%	41.42%	33.34%
C3	7/10/2024 12:12...	15.99%	47.10%	36.61%
C4	7/10/2024 12:13...	31.91%	37.56%	30.28%
C5	7/10/2024 12:15...	37.31%	35.51%	26.94%
C6	7/10/2024 12:16...	30.02%	38.34%	31.44%
C7	7/10/2024 12:17...	27.54%	38.70%	33.62%
C8	7/10/2024 12:18...	24.95%	42.14%	32.81%
C9	7/10/2024 12:20...	25.23%	39.66%	34.96%
C10	7/10/2024 12:21...	41.18%	40.42%	18.13%
C11	7/10/2024 12:22...	41.25%	39.98%	18.49%
C12	7/10/2024 12:24...	42.98%	40.83%	15.94%
D1	7/10/2024 1:58...			
D2	7/10/2024 1:59...			
D3	7/10/2024 2:00...			

Býci byli vybráni na základě výpočtu % zabřezávání po všech inseminacích (x, za období leden 2022 až duben 2023):

$$x = \frac{a * b + c * d}{a + c}$$

a = počet všech inseminací jalovic

b = % zabřezávání jalovic všechny inseminace

c = počet všech inseminací krav

d = % zabřezávání krav všechny inseminace

Tabulka 1. % zabřezávání po všech inseminacích

Bull 1	22,22222222
Bull 2	28,7973822
Bull 3	30,51363088
Bull 4	30,8552974
Bull 5	30,93289902
Bull 6	36,82093809
Bull 1	46,51074197
Bull 2	46,7395944
Bull 3	50,53929825
Bull 4	52,96756757
Bull 5	56,53369565
Bull 6	56,53502304

Proměnná	FERT-V	FERT-N
VIA (%)	27,51±1,69a	29,83±1,69a
PMD (%)	40,19±1,07a	37,46±1,07a
PAD (%)	32,21±1,92a	32,58±1,92a
ACD (%)	0,084±0,01a	0,12±0,01b
MIA (%)	18,19±1,99a	17,93±1,99a

FERT-V– skupina býků s vysokou fertilitou; FERT-N – skupina býků s nízkou fertilitou; VIA – životaschopnost spermií; PMD – podíl spermií s poškozenou plazmatickou membránou; PAD – podíl spermií s poškozenou plazmatickou membránou a akrozomem; ACD – podíl spermií s poškozeným akrozomem; MIA – podíl spermií s aktivními mitochondriemi; písmena (a-b) – různá písmena vyjadřují statisticky významný rozdíl mezi průměry v řádku na úrovni (P<0,05). Data jsou vyjádřena jako průměr ± SD

DĚKUJI ZA POZORNOST!



Ing. Filipp Georgijevič Savvulidi, Ph.D.



Department of Animal Science
Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources

+420 224 383 072
+420 721 860 923
savvulidi@af.czu.cz