

MIROSŁAW ŁUCZYŃSKI<sup>1\*</sup>, KONRAD OCALEWICZ<sup>2</sup>

**BIOTECHNOLOGIA A GOSPODARKA WĘDKARSKA – BANKI NASIENIA  
I ANDROGENEZA JAKO NARZĘDZIA OCHRONY I ODNOWY CENNYCH  
STAD I ZAGROŻONYCH GATUNKÓW RYB**

BIOTECHNOLOGY AND SPORT FISHERIES MANAGEMENT – SEMEN  
BANKS AND ANDROGENESIS AS TOOLS IN THE PRESERVATION  
AND RESTORATION OF VALUABLE STOCKS AND THREATENED SPECIES  
OF FISH

<sup>1</sup> Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska, <sup>2</sup> Katedra Ichtiologii,  
Wydział Ochrony Środowiska i Rybactwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie  
ul. Słoneczna 45G, 10-718 Olsztyn

**ABSTRACT**

The paper reviews techniques of genome engineering and their potential applications in freshwater finfish aquaculture. In particular, banking of cryopreserved fish semen combined with androgenesis (both intra- and interspecific) are viewed as the most promising techniques enabling the researcher to protect and restore the gene pools of threatened (wild) and valuable (farmed) fish stocks.

**Key words:** androgenesis, fish stock restoration, semen cryopreservation.

---

\* Autor do korespondencji: mirekl@uwm.edu.pl

## 1. WSTĘP

Współczesna biotechnologia dostarcza zaawansowanych narzędzi, umożliwiających zwiększanie produktywności szeregu technologii stosowanych w akwakulturze (Tramper i inni 2003, Adams i Thompson 2006). Ponadto dzięki biotechnologii opracowywane są nowatorskie techniki, umożliwiające zachowanie i odnowę zagrożonych populacji i gatunków ryb.

Wśród najważniejszych zastosowań biotechnologii w akwakulturze wymienia się: programy hodowlane, manipulacje rozrodem ryb, działania na rzecz poprawy zdrowia organizmów wodnych (Trippel i Tsang 2004), oraz podtrzymanie liczebności oraz ochronę (i odnowę) populacji i gatunków ryb, których istnienie jest zagrożone.

Realizacja powyższych celów jest często możliwa dzięki metodologiom wywodzącym się z genetyki, wśród których obok inżynierii genetycznej i chromosomowej dominującą rolę odgrywa obecnie inżynieria genomowa. Celem tego artykułu jest synteza obecnego stanu wiedzy na temat możliwości zastosowania androgenyzy (jednej z technik inżynierii genomowej) do podtrzymania liczebności lub odtwarzania cennych stad ryb, zagrożonych wyginieciem.

## 2. INŻYNIERIA GENOMOWA

Inżynieria genomowa ryb zaczęła się od zabiegów poliploidyzacji: tetra- i triploidyzacji, ponieważ hodowcy ryb byli zainteresowani uzyskiwaniem bezpłodnych triploidalnych osobników. Bieźpłodność ryb oznacza wyeliminowanie problemów związanych z osiągnięciem przez osobniki dojrzałości płciowej, takich jak: obniżenie tempa wzrostu, spadek jakości mięsa, zwiększona śmiertelność, itp. Tego rodzaju problemy znacznie obniżają opłacalność chowu dużych ryb towarowych (Chourrout i inni 1986).

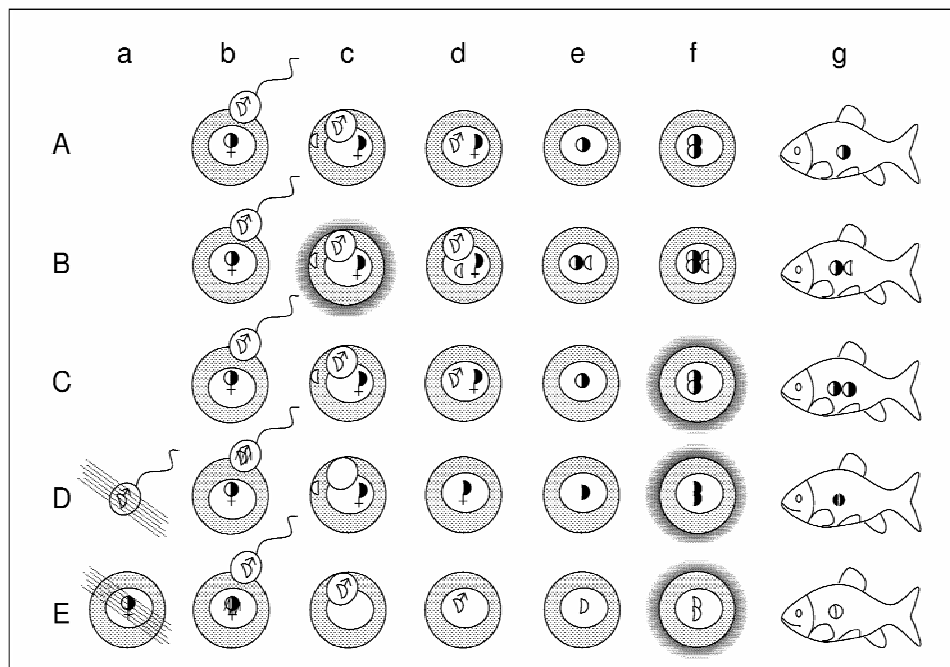
Ponieważ u większości gatunków ryb zapłodnienie jaj oraz rozwój embrionalny odbywają się w wodzie, możliwe jest manipulowanie poziomem ploidalności ryb poprzez poddawanie zaplemnionych jaj udarom chemicznym, termicznym lub ciśnieniowym (Purdom 1983). Zabiegi tego rodzaju są zwykle ogólnie określane jako udar środowiskowy lub udar. Udar chemiczny polega na poddaniu jaj działaniu substancji chemicznej powstrzymującej bieg mitozy; taką substancją jest na przykład cytochalazyna B (Beumont i Hoare 2003). Udar termiczny polega na zanurzeniu zaplemnionych jaj albo w ciepłej (w przypadku gatunków zimnolubnych) albo w zimnej wodzie. W celu zastosowania udaru ciśnieniowego zaplemnione jaja umieszcza się w komorze, w której wytwarza się wysokie ciśnienie. Parametry udaru, a także moment jego zastosowania oraz długotrwałość decydują o tym, czy ploidalność zarodków zostanie zmieniona i jaki będzie jej poziom. Wszystkie te parametry muszą zostać wyznaczone eksperymentalnie dla każdego gatunku ryb (Pandian i Koteswaran 1998).

Triploidy można otrzymać, jeśli wkrótce po zaplemnieniu (Rys. 1A/b) jaja podda się udarowi (Rys. 1B/c). Jaja ryb przechodzą mejotyczny podział ekwacyjny (ostatni podział komórkowy z wytworzeniem haploidalnej komórki jajowej) dopiero po zaplemnieniu. Gdy plemnik wnika do jaja, jądro oocytu drugiego rzędu dzieli się z wytworzeniem haploidalnego jądra oocytu i drugiego ciała biegunowego. Stosując udar wkrótce po zaplemnieniu jaj (Rys. 1B/c) przeciwdziała się wyrzuceniu drugiego ciała kierunkowego, które pozostaje wewnątrz jaja (Onozato 1984, Arai 1988). Gdy to nastąpi, w zapłodnionym jaju znajdują się trzy haploidalne genomy: jądro jaja, jądro plemnika, oraz jądro drugiego ciała biegunowego (Rys. 1B/e). Następnie te trzy jądra łączą się i powstaje jądro triploidalnej zygoty ( $3n$ ); dwa zawarte w nim zestawy chromosomów pochodzą od matki a jeden od ojca. Taka zygota zwana jest zygota autotriploidalną (Rys. 1B/g) (Luczynski i Rösch 1993), a opisany proces to autotriploidyzacja (Rys. 1B).

Triploidyzacja hybryd, czyli zduplikowanie genomu gatunku matczynego, umożliwia uzyskiwanie żywotnych hybryd w sytuacjach, gdy międzygatunkowe diploidalne mieszańce są nieżywotne; taki proces nazywany jest allotriploidyzacja.

Tetraploidyzacja jest zabiegiem, w którym stosuje się udar podczas pierwszego podziału zygoty (Rys. 1C/f), co zatrzymuje bieg mitozy. Zawsze podczas końcowej fazy mitozy, zanim nastąpi podział komórki zygoty na dwie komórki potomne, wszystkie chromosomy ulegają replikacji: ploidalność komórki przejściowo wzrasta z  $2n$  do  $4n$ . Przeciwdziałanie dokończeniu pierwszego podziału zygoty powoduje, iż embriion pozostaje w stanie 1-komórkowym, podczas gdy dwa diploidalne jądra komórkowe (jądro zygoty zaczęło się tymczasem dzielić) łączą się i tworzą jądro tetraploidalne ( $4n$ ).

Gynogeneza to uzyskiwanie organizmów, których cały genom pochodzi od matki. Pierwszym krokiem na drodze uzyskiwania ryb gynogenetycznych jest funkcjonalne zniszczenie genomu plemników poprzez ich ekspozycję na promieniowanie UV (lub inne) (Rys. 1D) (Luczynski i inni 2007). Mimo że genom plemnika zostaje zniszczony, fizjologicznie taki plemnik może zaplemnić jajo, uaktywnić je i wzbudzić rozwój zarodka. Plemnik nie dostarcza swoich genów tak powstającemu zarodkowi, a rozwijająca się zygota jest haploidalna ( $n$ ) (Rys. 1D/d). Haploidalne zygoty rozpoczynają proces rozwoju zarodkowego, lecz przebiega on nieprawidłowo i wszystkie zarodki wkrótce giną. Jednak jeśli haploidalną zygotę poddać udarowi podczas pierwszego podziału mitotycznego zarodka, wówczas taka zygota stanie się diploidalna (Rys. 1D/f) (Refstie 1983); Jeśli udar zastosuje się wkrótce po inseminacji jaja, drugie ciało kierunkowe zostanie zatrzymane wewnątrz komórki jajowej i połączy się z jądrem jaja, co również umożliwi uzyskanie diploidalnej zygoty gynogenetycznej. Obydwa haploidalne zestawy chromosomów (genomy) powstającej zygoty pochodzą od jej matki, a taka ryba jest gynogenotem; zygota nie otrzymuje żadnych genów od ojca (Rys. 1D).



**Rys. 1.** Schemat zaplemnienia i zapłodnienia oraz manipulacji genomowych: poliploidyzacji, gynogenezy i androgenozy. A – normalne zaplemnienie i zapłodnienie, B – (auto)triploidyzacja – udar środowiskowy zastosowany podczas podziału mejotycznego (B.c), C – tetraploidyzacja – udar środowiskowy zastosowany podczas pierwszego podziału mitotycznego (C.f), D – gynogeneza – zaplemnienie jaja plemnikiem o zniszczonym genomie oraz zastosowanie udaru środowiskowego w mitozie (D.f) powoduje odtworzenie diploidalnego genomu gynogenetycznego, E – androgeneza – zaplemnienia jaja o zniszczonym genomie jądrowym haploidalnym plemnikiem i zastosowanie udaru środowiskowego podczas pierwszej mitozy (E.f) powoduje utworzenie diploidalnego genomu androgenetycznego. Szczegóły w tekście.

**Fig. 1.** Schematic diagram of the insemination, fertilisation and genome manipulations: poliploidisation, gynogenesis and androgenesis. A – normal insemination and fertilisation, B – (auto)triploidisation – environmental shock applied during the meiotic division (B.c), C – tetraploidisation – environmental shock applied during the first mitotic division (C.f), D – gynogenesis – insemination of the oocyte with the sperm with destroyed nuclear genome followed by the application of the environmental shock during the first mitotic division (D.f) restores diploidy of gynogenetic genome, E – androgenesis – insemination of the oocyte whose nuclear genome has been destroyed with the haploid sperm followed by the environmental shock applied during the first mitotic division (E.f) produces diploid androgenetic genome of the zygote. Details in the text.

Androgeneza następuje wtedy, gdy samiczy jądrowy materiał genetyczny zostaje zniszczony w rezultacie napromieniowania jaj przed ich inseminacją (Rys. 1E/a). Zygota zawiera wówczas jedynie haploidalne jądro plemnika (Rys. 1E/d), które dzieli się podczas pierwszego podziału mitotycznego zygoty. Aby uzyskać androgenetyczne diploidy należy zastosować udar podczas pierwszego podziału mitotycznego (Rys. 1E/f). Powstrzymanie podziału komórki spowoduje połączenie się haploidalnych jąder z wytworzeniem jądra diploidalnego, zawierającego wyłącznie chromosomy ojcowskie (May i inni 1988).

W przypadku gatunków ryb, które mają system chromosomowej determinacji płci typu XY, w wyniku androgenozy otrzymuje się tak zwane „supersamce” YY (Ocalewicz i Babiak 2003). Gdy supersamce YY skrzyżuje się z normalnymi samicami XX, uzyska się 100 % potomstwa samczego (XY), co może być dobrym sposobem na otrzymywanie jednopłciowych samczych stad takich gatunków (Parsons i Thorgaard 1985).

### **3. TECHNIKI UMOŻLIWIJĄCE PRZEPROWADZENIE ANDROGENEZY**

Uzyskanie androgenotów danego gatunku ryb wymaga opanowania co najmniej dwóch technik: inaktywacji matczynego genomu jądrowego jaj oraz diploidyacji androgenetycznej zygoty podczas jej pierwszego podziału mitotycznego. Natomiast skuteczne stosowanie androgenozy w programie podtrzymania lub restytucji gatunku zagrożonego wyginięciem wymaga także opanowania techniki kriokonserwacji plemników (nasienia) danego gatunku.

Kriokonserwacja nasienia (plemników) przyczyniła się w znacznym stopniu do sukcesów sztucznego rozrodu szeregu gatunków ryb (Babiak i inni 1995, 1997, 2002a, Tanaka i inni 2002). Inne zastosowania tej techniki mogą obejmować tworzenie hybryd międzygatunkowych oraz zabezpieczanie się przed utratą hodowlanych stad ryb w przypadku katastrofalnego wybuchu choroby. Kriokonserwację uznaje się też za jedną z kluczowych technik w procesie ratowania gatunków ginących (Basavaraja i Hedge 2004, Huang i inni 2004).

Proces kriokonserwacji nasienia ryb jest stosunkowo dobrze opracowany. Po pierwsze nasienie musi zostać rozcieńczone. Stosuje się tu szereg rozcieńczalników (krioprotektantów) (od złożonych roztworów soli fizjologicznych naśladujących plazmę nasienia po proste roztwory cukrów). Zwykle rozcieńczone nasienie jest zamrażane albo na suchym lodzie jako granule albo w słomkach umieszczonych w oparach ciekłego azotu (Babiak i inni 1995, Ciereszko 2008). Po okresie przechowywania w ciekłym azocie nasienie jest rozmrażane (najczęściej w termoregulowanej kąpieli wodnej) i używane do zaplemnienia jaj. Mimo dokonanych w ostatnich dziesięcioleciach znacznych postępów w opracowaniu technik

mrożenia nasienia ryb zazwyczaj konieczne jest dostosowywanie szczegółów tej techniki do wymagań poszczególnych gatunków ryb (Sarvi i inni 2006).

Dwie kolejne techniki, konieczne w procesie uzyskiwania androgenotów, zostaną omówione na przykładzie (wewnątrzgatunkowej i międzygatunkowej) androgenezы ryb łososiowatych.

### ANDROGENEZA WEWNĄTRZGATUNKOWA

Do inaktywacji jądrowego genomu komórek jajowych ryb łososiowatych ze względu na wielkość tych komórek stosuje się przenikliwe promieniowanie jonizujące (promieniowanie gamma lub promieniowanie X) (Tab. 1). Promieniowanie jonizujące inaktywuje matczyne chromosomy poprzez ich fragmentację. Ograniczeniem tej techniki jest trudny dostęp do specjalistycznej aparatury – urządzenia do napromieniowywania promieniami gamma emitowanymi przez izotop kobaltu ( $^{60}\text{Co}$ ) (zwane „bombami kobaltowymi”) albo promieniami X (akceleratory promieni X) są na wyposażeniu nielicznych ośrodków akademickich w kraju.

**Tabela 1.** Przykłady metod inaktywacji genomu matczynego jaj Salmonidae (inkubowanych w temperaturze 10°C); \*R – Rentgen.

**Table 1.** Examples of protocol for maternal genome inactivation in Salmonidae eggs (incubated at the temperature of 10°C); \*R – Roentgen.

Gatunek	Czynnik środowiskowy	Intensywność czynnika środowiskowego (R)*	Literatura
Species	Environmental agent	Environmental agent intensity (R)*	References
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	$\gamma$ ( $^{60}\text{Co}$ )	30 000	Parsons i Thorgaard 1984
	$\gamma$ ( $^{60}\text{Co}$ )	36 000	Parsons i Thorgaard 1985
	$\gamma$ ( $^{60}\text{Co}$ )	36 000	Scheerer i inni 1991
	$\gamma$ ( $^{60}\text{Co}$ )	40 000	Thorgaard inni 1990
	$\gamma$ ( $^{60}\text{Co}$ )	35 000	Babiak i inni 2002b
	X (akcelerator)	35 000	Ocalewicz i inni 2008
<i>Salmo trutta</i>	$\gamma$ ( $^{60}\text{Co}$ )	35 000	Babiak i inni 2002c
		50 000	Babiak i inni 2002c
<i>Salvelinus fontinalis</i>	$\gamma$ ( $^{60}\text{Co}$ )	35 000	Babiak i inni 2002c
		50 000	Babiak i inni 2002c
		88 000	May i inni 1988

W celu inaktywacji jądrowego genomu oocytów ryb łososiowatych stosuje się dawki promieniowania gamma lub X w zakresie od 30 000 do 88 000 R (Chourrout 1984, Parsons i Thorgaard 1985, May i inni 1988, Thorgaard i inni 1990, Scheerer i inni 1991, Babiak i inni 2002b, c).

Napromieniowywanie oocytów pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) dawkami wyższymi niż 35 000 R ale nie przewyższającymi dawki 50 000 R nie wpływało na przeżywalność androgenotów. Natomiast dawki promieniowania gamma powyżej 65 000 R okazały się letalne dla komórek jajowych tego gatunku (Babiak i inni 1998). Żywotne androgenetyczne pstrągi źródlane uzyskano w wyniku inseminacji oocytów inaktywowanych dawką 88 000 R (May i inni 1988). Inaktywacja genomu oocytów pstrąga potokowego (*Salmo trutta*) i pstrąga źródlanego (*Salvelinus fontinalis*) przeprowadzona przy użyciu dawek 35 000 R i 50 000 R okazała się skuteczna i w obu przypadkach uzyskano androgenetyczny wylęg (Babiak i inni 2002c).

W wyniku zapłodnienia inaktywowanych oocytów otrzymujemy haploidalne ( $1n$ ) zygoty androgenetyczne. Zatrzymanie I podziału mitotycznego, powodujące zwiększenie ploidalności zygoty do  $2n$ , uzyskuje się poddając haploidalne zygoty udarom środowiskowym: ciśnieniowemu lub termicznemu (Tab. 2).

**Tabela 2.** Przykłady metod diploidyzacji androgenetycznych zygot Salmonidae (inkubowanych w temperaturze 10°C).

**Table 2.** Examples of protocol for diploidisation of androgenetic zygotes of Salmonidae (incubated at the temperature of 10°C).

Gatunek	Wiek zygoty (AF)	Czynnik środowiskowy	Intensywność czynnika środowiskowego	Literatura
Species	Age of zygote (AF)	Environmental agent	Environmental agent intensity	References
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	345 min	P	9 000 psi·3 min	Parsons i Thorgaard 1985
	210 min	H	31.5°C·5 min	Babiak i inni 2002b
	350 min	P	7 000 psi·4 min	Babiak i inni 2002b
	350 min	P	9 000 psi·3 min	Babiak i inni 2002b
				9 000 psi·4 min
<i>Salmo trutta</i>	350 min	P	48 263 kN·m <sup>-2</sup> ·4 min	Babiak i inni 2002c
	450 min	P	48 263 kN·m <sup>-2</sup> ·4 min	Babiak i inni 2002c
<i>Salvelinus fontinalis</i>	450 min	P	8 500 psi·3 min	May i inni 1988
	350 min	P	48 263 kN·m <sup>-2</sup> ·4 min	Babiak i inni 2002c
	450 min	P	48 263 kN·m <sup>-2</sup> ·4 min	Babiak i inni 2002c

Objaśnienia: AF – po zapłodnieniu, P – udar wysokiego ciśnienia; H – udar wysokiej temperatury, 689 kN·m<sup>-2</sup> = 100 psi.

Explanations: AF – after fertilization, P – high pressure impact; H – high temperature impact, 689 kN·m<sup>-2</sup> = 100 psi.

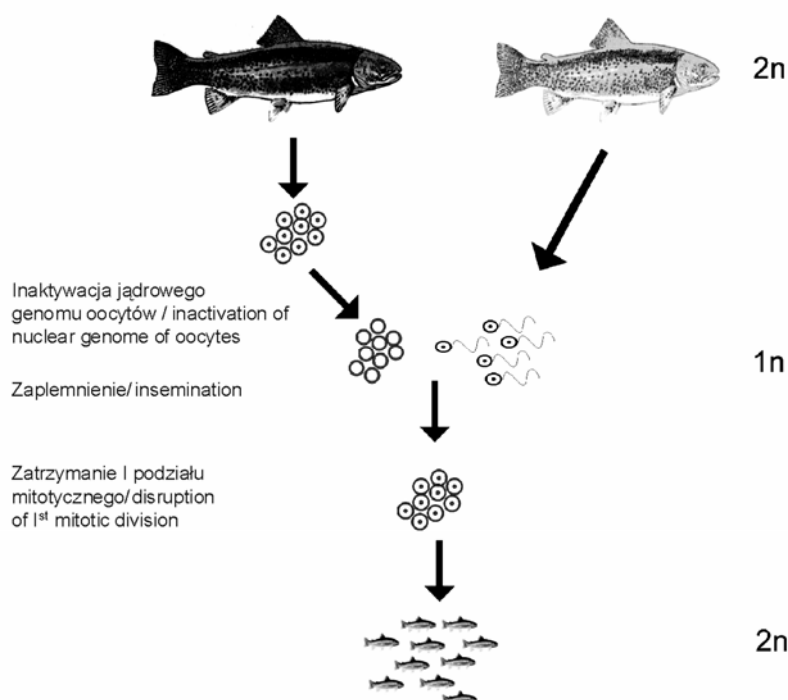
W przypadku androgenetycznych zygot pstrąga tęczowego rozwijających się w wodzie o temperaturze 10°C, zatrzymanie I podziału mitotycznego przeprowadza się po upływie 350–390 minut po zaplemnieniu, poprzez zastosowanie udaru ciśnieniowego (7 000–9 000 psi) trwającego 3–4 minuty lub udaru temperaturowego (26,0–31,5°C) trwającego 5 minut i zastosowanego 210 minut po zaplemnieniu (Babiak i inni 2002b, c). Wylęg androgenetycznych pstrągów źródłanych i pstrągów potokowych uzyskano poddając haploidalne zygoty udarowi ciśnieniowemu, odpowiednio 350 i 450 minut po zaplemnieniu (Babiak i inni 2002c).

Podczas indukcji androgenozy pstrągów tęczowych komórki jajowe pochodzące od osobników z wyselekcjonowanej linii Rutki (osobniki dziko ubarwione) inseminowano nasieniem produkowanym przez samce z linii albinotycznej (Rys. 2) (Babiak i inni 2002b). Nie zaobserwowano różnic w przeżywalności androgenetycznych pstrągów tęczowych uzyskanych w wyniku androgenozy przeprowadzonej na komórkach płciowych pochodzących od ryb z tej samej linii czy od samców i samic reprezentujących różne linie lub populacje (Babiak i inni 2002b).

Sukcesem zakończyły się także próby przeprowadzenia androgenozy pstrąga tęczowego z użyciem nasienia przechowywanego w banku genów (zamrożonego w ciekłym azocie). Przeżywalność takich androgenotów osiągała poziom charakterystyczny dla androgenetycznych ryb powstałych w wyniku zaplemnienia świeżym nasieniem (Babiak i inni 2002b). Niestety, skuteczność androgenozy jest wciąż bardzo niska. Przeżywalność androgenetycznych pstrągów tęczowych do momentu wyklucia jest nie wyższa niż 70% i drastycznie spada podczas dalszego rozwoju tych ryb (Komen i Thorgaard 2007). W momencie uzyskania przez androgenoty dojrzałości płciowej ich przeżywalność jest niższa niż 1% (Babiak i inni 2002b, c, Ocalewicz i inni 2008). W przypadku androgenetycznych pstrągów potokowych i źródłanych, jak do tej pory nie udało się uzyskać dojrzałych płciowo osobników. Duża śmiertelność androgenetycznych ryb to niewątpliwie skutek drastycznych zabiegów stosowanych podczas indukcji tego procesu, ujawnienia się recesywnych alleli letalnych, ale także często miernej jakości komórek jajowych wykorzystanych podczas tego procesu (Komen i Thorgaard 2007). W przypadku ryb informacja zawarta w matczynym mRNA zdeponowanym podczas oogenezy w cytoplazmie oocytów jest kluczowa dla pierwszych 10–12 podziałów komórkowych zygoty/embrionu (Pelegri 2003). Zbyt duża dawka promieniowania jonizującego zastosowana do inaktywacji jądrowego genomu komórek jajowych może zniszczyć niezbędne do rozwoju embrionalnego czynniki cytoplazmatyczne. Z drugiej strony, pozostałości jądrowego genomu matczynego, z którymi mamy do czynienia gdy dawka promieniowania jest zbyt mała by w pełni inaktywować genom komórek jajowych, mogą być przyczyną zablokowania podziałów komórkowych i śmierci androgenetycznego zarodka lub powodować letalne dla zarodka reorganizacje chromoso-



mowe (Ocalewicz i inni 2004). Ubocznym skutkiem stosowania udaru ciśnieniowego i termicznego do zatrzymania pierwszego podziału mitotycznego są zaburzenia ploidalności androgenetycznych osobników. Brak synchronizacji cyklu komórkowego u androgenetycznych zygot powoduje, że wśród androgenotów spotykamy osobniki posiadające populacje komórek haploidalnych i diploidalnych (Lin i inni 2001, Tanaka i inni 2003).



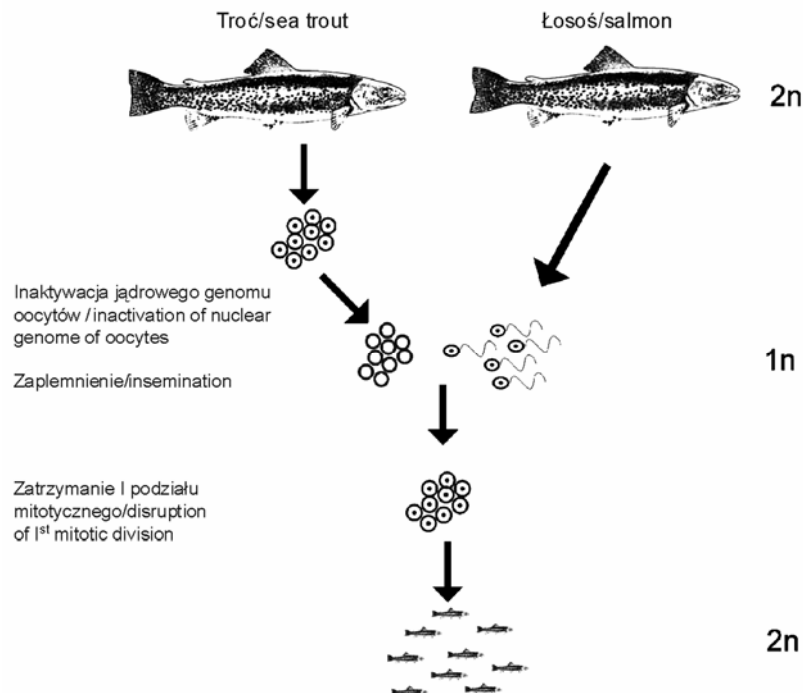
**Rys. 2.** Androgeneza pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) z wykorzystaniem osobników z różnych linii selekcyjnych.

**Fig. 2.** Androgenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) with the use of specimens originating from different selection lines.

Pomimo tak niskiej przeżywalności androgenetycznych osobników, metodę androgenезы możemy uznać za skuteczną w przypadku działania wewnątrz tego samego gatunku i stwarzającą perspektywę odtwarzania puli genowej danej populacji lub linii, przechowywanej w postaci zamrożonego nasienia. Z drugiej strony, w dalszym ciągu należy poszukiwać takich warunków inaktywacji jądrowego genomu komórek jajowych i udaru zatrzymującego pierwszy podział mitotyczny haploidalnej zygoty, aby zwiększyć przeżywalność androgenetycznych ryb.

### ANDROGENEZA MIĘDZYGATUNKOWA

Androgeneza z wykorzystaniem komórek jajowych i plemników pochodzących od osobników reprezentujących różne gatunki (Rys. 3) może być metodą użyteczną w procesie ochrony zagrożonych gatunków ryb.



**Rys. 3.** Schemat androgenozy międzygatunkowej troci (*Salmo trutta morpha trutta*) (samica) i łososia atlantyckiego (*Salmo salar*) (samiec).

**Fig. 3.** Schematic diagram of interspecific androgenesis with the use of a sea trout (*Salmo trutta morpha trutta*) female and Atlantic salmon (*Salmo salar*) male.

Materiał genetyczny, czyli nasienie pobrane od samców takich gatunków i przechowywane w ciekłym azocie, mógłby zostać odtworzony metodą androgenozy międzygatunkowej. Prace nad uzyskaniem żywotnych i płodnych androgenotów uzyskanych w wyniku inseminacji oocytów pobranych od samic należących do innych gatunków tego samego (lub innego, blisko spokrewnionego) rodzaju ryb są na wczesnym etapie zaawansowania. Androgenetyczne potomstwo uzyskano w wyniku zapłodnienia inaktywowanych oocytów karpia (*Cyprinus carpio* L.) nasieniem karasia (*Carassius auratus auratus* L.) (Bercsenyi i inni 1998). Androgenoty uzyskane w wyniku inseminacji inaktywowanych komórek jajowych pobranych od *Puntius tetrazona* nasieniem *Puntius conchoni* udało się

podchować do etapu dojrzałości płciowej (Kirankumar i Pandian 2004). Jądrowy genom plemników *Hemigrammus caudovittatus* odtworzono w wyniku zapłodnienia nimi oocytów *Gymnocorymbus ternetzi* (Pandian i Kirankumar 2005). W przypadku ryb łososiowatych spektakularnym osiągnięciem było odtworzenie jądrowego genomu pstrąga tęczowego metodą międzygatunkowej androgenizacji z wykorzystaniem komórek jajowych *Oncorhynchus clarki bouvieri* (Richardson) (Brown i Thorgaard 2002). Jak dotąd nie udało się odtworzyć materiału genetycznego pochodzącego z plemników łososia atlantyckiego (*Salmo salar* L.), pstrąga potokowego, pstrąga źródlanego i palii (*Salvelinus alpinus* L.) w wyniku międzygatunkowej androgenizacji, nawet w przypadku stosowania gamet pochodzących od ryb tego samego rodzaju (Babiak i inni 2002c). Przypuszczamy, że niska przeżywalność międzygatunkowych androgenotów podczas rozwoju embrionalnego spowodowana jest tymi samymi czynnikami, które są odpowiedzialne za wysoką śmiertelność ryb uzyskanych w wyniku wewnątrzgatunkowej androgenizacji i dodatkowo niedopasowaniem czy wręcz konfliktem między matczynym mitochondrialnym DNA, cytoplazmatycznym mRNA i cytoplazmatycznymi białkami a ojcowskim materiałem genetycznym. Konflikt cytoplazmatyczno-jądrowy zaobserwowano podczas embrionalnego rozwoju hybryd *Oncorhynchus masou* (Brevoort) X pstrąg tęczy (Fujiwara i inni 1997). Podczas ontogenetycznego rozwoju tych ryb dochodziło do eliminacji chromosomów obu gatunków z przewagą eliminacji chromosomów ojcowskich, co skutkowało śmiercią ryb jeszcze przed ich wykluciem (Fujiwara i inni 1997). W nielicznych przypadkach różnice międzygatunkowe są na tyle niewielkie, że nie dochodzi do konfliktu między wymienionymi czynnikami i osobniki należące do różnych gatunków krzyżują się z dość dużą łatwością, dając często płodne hybrydy międzygatunkowe (Fujiwara i inni 1997). Wydaje się więc, że międzygatunkowa androgeniza ma szansę powodzenia, gdy weźmiemy pod uwagę gatunki, które w warunkach naturalnych bądź hodowlanych są zdolne do krzyżowania się ze sobą, a uzyskane na tej drodze hybrydy są zdolne do reprodukcji. Wielokrotnie opisywano żywotne i płodne hybrydy łososia atlantyckiego i troci (*Salmo trutta*), pojawiające się spontanicznie w rzekach Europy i Ameryki Północnej (Verspoor 1988, Garcia de Leaniz i Verspoor 1989). Krzyżowanie tych dwóch gatunków w warunkach hodowlanych nie następuje zbyt wielu trudności, a uzyskane na tej drodze hybrydy są płodne (Galbreath i Thorgaard 1995). Także hybrydy uzyskane w wyniku krzyżowania samic pstrąga potokowego i samców pstrąga źródlanego wykazują relatywnie wysoką przeżywalność (dane niepublikowane: H. Kuźmiński, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie).

Wybór odpowiednich kombinacji gatunków ryb (Sakai i inni 2007), wykorzystanie oocytów charakteryzujących się wysoką jakością oraz optymalizacja warunków inaktywacji genomu jądrowego komórek jajowych

i zatrzymania pierwszego podziału mitotycznego androgenetycznej zygoty są elementami, dzięki którym uzyskanie żywotnych i płodnych androgenotów międzygatunkowych może stać się realnym zadaniem badawczym.

#### 4. SUMMARY

Numerous populations of fish reared in farms and inhabiting natural water bodies experience drastic fluctuations in their abundance. Sometimes even the existence of the population is threatened: for instance a heavy pollution of a river may exterminate a local grayling population, and an outbreak of a rainbow trout disease may destroy the results of a long-lasting breeding program. Today, gene pools of valuable wild or farmed fish populations may be protected owing to the cryopreservation of fish sperm and its storage in "gene banks". The restoration of the gene pool of an extinct population is more complicated and involves the employment of androgenesis (Fig. 1 and Fig. 2), one of the techniques of genome engineering.

The technology of the semen cryopreservation is fairly advanced: the semen of a given fish species may be cryopreserved by the application of the already existing technique, or, if necessary, a new respective technique may be developed within a relatively short period of time.

The application of androgenesis, however, confronts a number of difficulties, and perfecting of this technique as well as its adaptation to the biological demands of a variety of fish species requires a great deal of further studies (Table 1 and Table 2).

#### 5. LITERATURA

- Adams A., Thompson K.D. 2006. Biotechnology offers revolution to fish health management. *Trends in Biotechnology*, 24, 201–205.
- Aerni P. 2004. Risk, regulation and innovation: The case of aquaculture and transgenic fish. *Aquat. Sci.*, 66, 327–341.
- Arai K. 1988. Viability of allotriploids in salmonids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1695–1701.
- Babiak I., Glogowski J., Luczynski M.J., Kucharczyk D., Luczynski M. 1995. Cryopreservation of the milt of the northern pike. *J. Fish Biol.*, 46, 819–828.
- Babiak I., Glogowski J., Luczynski M.J., Luczynski M. 1997. Effect of individual variability on cryopreservation of northern pike, *Esox lucius* L., sperm. *Aquac. Res.*, 28, 191–197.
- Babiak I., Dobosz S., Goryczko K., Kuzminski H., Woznicki P. 1998. Androgenesis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using gamma irradiation and heat shock. *Aquaculture Europe '98. Aquaculture and Water: fish culture, shellfish culture and water usage*. Bordeaux, France, October 7–10, 1998.
- Babiak I., Glogowski J., Dobosz S., Kuzminski H., Goryczko K. 2002a. Semen from rainbow trout produced using cryopreserved spermatozoa is more suitable for cryopreservation. *J. Fish Biol.*, 60, 561–570.

- Babiak I., Dobosz S., Goryczko K., Kuzminski H., Brzuzan P., Ciesielski S. 2002b. Androgenesis in rainbow trout using cryopreserved spermatozoa: the effect of processing and biological factors. *Theriogenology*, 57, 1229–1249.
- Babiak I., Dobosz S., Kuzminski H., Goryczko K., Ciesielski S., Brzuzan P., Urbanyi B., Horvath A., Lahnsteiner F., Piironen J. 2002c. Failure of interspecies androgenesis in salmonids. *J. Fish Biol.*, 61, 432–447.
- Basavaraja N., Hegde S.N. 2004. Cryopreservation of the endangered mahseer (*Tor khudree*) spermatozoa: I. Effect of extender composition, cryoprotectants, dilution ratio, and storage period on post-thaw viability. *Cryobiology*, 49, 149–156.
- Beaumont A.R., Hoare K. 2003. *Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture*. Blackwell Science Ltd. ss. 158.
- Bercsenyi M., Magyary I., Urbanyi B., Orban L., Horvath L. 1998. Hatching out goldfish from common carp eggs: interspecies androgenesis between two cyprinid species. *Genome*, 41, 573–579.
- Brown K.H., Thorgaard G.H. 2002. Mitochondrial and nuclear inheritance in an androgenetic line of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 204, 323–335.
- Chourrout D. 1984. Pressure-induced retention of second polar and suppression of first cleavage in rainbow trout. Production of all triploids, all tetraploids, and heterozygous and homozygous diploid gynogenesis. *Aquaculture*, 36, 111–126.
- Chourrout D., Chevassus B., Krieg F., Happe A., Burger G., Renard P. 1986. Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females – Potential of tetraploid fish. *Theor. Appl. Gen.*, 72, 193–206.
- Ciereszko A. 2008. Chemical composition of seminal plasma and its physiological relationship with sperm motility, fertilizing ability and cryopreservation success in fish. (W: *Fish spermatology*. Red. S.M.H. Alavi, J. Cosson, K. Coward, G. Rafiee). Alpha Science Ltd., Oxford, UK. ss. 215–240.
- Devlin R.H., Biagi C.A., Yesaki T.Y. 2004. Growth, viability and genetic characteristics of GH transgenic coho salmon strains. *Aquaculture*, 236, 607–632.
- Devlin R.H., Sundström L.F., Muir W.M. 2006. Interface of biotechnology and ecology for environmental risk assessments of transgenic fish. *Trends in Biotechnology*, 24, 89–97.
- Fujiwara A., Abe S., Yamaha E., Yamazaki F., Yoshida M.C. 1997. Uniparental chromosome elimination in the early embryogenesis of the inviable salmonid hybrids between masu salmon female and rainbow trout male. *Chromosoma*, 106, 44–52.
- Galbreath P.F., Thorgaard G.H. 1995. Sexual maturation and fertility of diploid and triploid Atlantic salmon x brown trout hybrids. *Aquaculture*, 137, 299–311.
- Garcia de Leaniz C., Verspoor E. 1989. Natural hybridization between Atlantic salmon, *Salmo salar*, and brown trout, *Salmo trutta*, in northern Spain. *J. Fish Biol.*, 34, 41–46.
- Huang C., Dong Q., Walter R.B., Tiersch T.R. 2004. Initial studies on sperm cryopreservation of a live-bearing fish, the green swordtail *Xiphophorus helleri*. *Theriogenology*, 62, 179–194.
- Irvine D.V., Shaw M.L., Choo K.H.A., Saffery R. 2005. Engineering chromosomes for delivery of therapeutic genes. *Trends in Biotechnology*, 23, 575–583.

- King R.C. 1968. A dictionary of genetics. Oxford University Press, New York. ss. 283.
- Kirankumar S., Pandian T.J. 2004. Interspecific androgenetic restoration of barb using its cadaveric sperm. *Genome*, 47, 66–73.
- Komen H., Thorgaard G.H. 2007. Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: A review. *Aquaculture*, 269, 150–173.
- Lin F., Dabrowski K., Luczynski M.J., Luczynski M. 2001. Mosaic individuals found in genetically manipulated northern pike *Esox lucius* using flow cytometry. *J. Appl. Ichthyol.*, 17, 85–88.
- Luczynski M., Rösch R. 1993. Genetics in trout culture. Present state and nearest developments. *Arbeiten aus der Fischereiforschungsstelle Baden-Württemberg, Langenargen, Federal Republic of Germany*. ss. 48.
- Luczynski M.J., Dabrowski K., Kucharczyk D., Glogowski J., Luczynski M., Szczerbowski A., Babiak I. 2007. Gynogenesis in northern pike: UV-inactivation of spermatozoa and the heat shock inducing meiotic diploidization. *Environmental Biotechnology*, 3, 39–43.
- Luczyński, M. 2008. Biotechnologia w akwakulturze ryb słodkowodnych: inżynieria genomowa jako narzędzie ochrony gatunków (W: Trendy biotechnologii środowiskowej. Red. I. Wojnowska-Baryła). Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. ss. 11–40.
- May B., Henley K.J., Krueger C.C., Gless S.P. 1988. Androgenesis as a mechanism for chromosome set manipulation in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, 75, 57–70.
- Ocalewicz K., Babiak I. 2003. Primed *in situ* labelling of 5S rDNA sequences in normal and androgenetic rainbow trout. *J. Fish Biol.*, 62, 1462–1466.
- Ocalewicz K., Babiak I., Dobosz S., Nowaczyk J., Goryczko K. 2004. The stability of telomereless chromosome fragments in adult androgenetic rainbow trout. *J. Exp. Biol.*, 207, 2229–2236.
- Ocalewicz K., Dobosz S., Kuzminski H., Nowosad J., Goryczko K. 2008. Incomplete inactivation of maternal nuclear DNA and high pressure shock decrease significantly survival rate in androgenetic rainbow trout (submitted).
- Onozato H. 1984. Diploidization of gynogenetically activated salmonid eggs by using hydrostatic pressure. *Aquaculture*, 43, 91–97.
- Pandian T.J., Koteeswaran R. 1998. Ploidy induction and sex control in fish. *Hydrobiologia*, 384, 167–243.
- Pandian T.J., Kirankumar S. 2005. Androgenesis and conservation of fishes. (W: Fish genetics and aquaculture biotechnology. Red. T.J. Pandian, C.A. Strussmann, M.P. Marian). Science Publisher, Inc. ss. 37–64.
- Parson J.E., Thorgaard G.H. 1984. Induced androgenesis in rainbow trout. *J. Exp. Zool.*, 231, 407–412.
- Parson J.E., Thorgaard G.H. 1985. Production of androgenetic diploid rainbow trout. *J. Her.*, 76, 177–181.
- Passarge E. 1995. Color atlas of genetics. Georg Thieme Verlag Stuttgart. ss. 411.
- Pelegri F. 2003. Maternal factors in zebrafish development. *Dev. Dynam.*, 228, 535–554.
- Purdom C.E. 1983. Genetic engineering by the manipulation of chromosomes. *Aquaculture*, 33, 287–300.

- Refstie T. 1983. Induction of diploid gynogenesis in Atlantic salmon and rainbow trout using irradiated sperm and heat shock. *Can. J. Zool.*, 61, 2411–2416.
- Sakai C., Konno F., Nakano O., Iwai T., Yokota T., Lee J., Nishida-Umehara C., Kuroiwa A., Matsuda Y., Yamashita M. 2007. Chromosome elimination in the interspecific hybrid medaka between *Oryzias latipes* and *O. hubbsi*. *Chromosome Res.*, 15, 697–709.
- Sarvi K., Niksirat H., Mojazi Amiri B., Mirtorabi S.M., Rafiee G.R., Bakhtyari M. 2006. Cryopreservation of semen from the endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Aquaculture*, 256, 564–569.
- Scheerer P.D., Thorgaard G.H., Allendorf F.W. 1991. Genetic analysis of androgenetic rainbow trout. *J. Exp. Zool.*, 260, 382–290.
- Tanaka S., Zhang H., Horie N., Yamada Y., Okamura A., Utoh T., Mikawa N., Oka H.P., Kurokura H. 2002. Long-term cryopreservation of sperm of Japanese eel. *J. Fish Biol.* 60, 139–146.
- Tanaka M., Kimura S., Fujimoto T., Sakao S., Yamaha E., Arai K. 2003. Spontaneous mosaicism in normally fertilized and gynogenetically induced progeny of the kokanee salmon *Oncorhynchus nerka*. *Fish. Sci.*, 69, 176–180.
- Tave D. 1986. Genetics for fish hatchery managers. AVI Publishing Company, Inc., Wesport, Connecticut. ss. 299.
- Thorgaard G.H., Schereer P.D., Hershberger W.K., Myers J.M. 1990. Androgenetic rainbow trout produced using sperm from tetraploid males show improved survival. *Aquaculture*, 85, 215–221.
- Tramper J., Battershill C., Brandenburg W., Burgess G., Hill R., Luiten E., Müller W., Osinga R., Rorrer G., Tredici M., Uriz M., Wright P., Wijffels R. 2003. What to do in marine biotechnology? *Biomolecular Engineering*, 20, 467–471.
- Trippel E.A., Tsang P. 2004. Biotechnology workshop, St. Andrews. Bulletin of the Aquaculture Association of Canada, 104–2. ss. 100.
- Verspoor E. 1988. Widespread hybridisation between Atlantic salmon, *Salmo salar*, and introduced brown trout, *S. trutta*, in eastern Newfoundland. *J. Fish Biol.*, 32, 327–334.
- Zhu Z., Li G., He L., Chen S. 1985. Novel gene transfer into the fertilized eggs of goldfish (*Carassius auratus* L. 1758). *J. Appl. Ichthyol.*, 1, 31–34.

**APENDYKS / APPENDIX**

## PODSTAWOWE HASŁA (UPORZĄDKOWANE ALFABETYCZNIE) ORAZ ICH OBJAŚNIENIA

## BASIC TERMS (ARRANGED ALPHABETICALLY) AND THEIR EXPLANATIONS

**chromosom(y)** – cała „informacja genetyczna” organizmu jest zapisana w jego DNA. DNA składa się na struktury zwane chromosomami, które są zlokalizowane w jądrze komórki. Liczba chromosomów jest stała i charakterystyczna dla wszystkich osobników danego gatunku (choć bywają wyjątki od tej reguły). U większości ryb (i innych organizmów) chromosomy występują w parach; takie organizmy zwane są diploidalnymi ( $2n$ ). Jeden chromosom danej pary pochodzi od matki, a drugi od ojca danego organizmu. Istnieją dwa zasadnicze typy chromosomów: autosomy i chromosomy płci. Chromosomy płci zazwyczaj determinują płć osobnika, a para chromosomów płci często różni się morfologicznie u osobników obu płci (Łuczyński 2008).

**genom** – cały materiał genetyczny komórki lub osobnika (Passarge 1995). W przypadku gamet używa się tego terminu do określenia wszystkich genów pojedynczej gamety (której jądro zawiera po jednym chromosomie z każdej pary chromosomów rodzicielskich); taki zestaw pojedynczych chromosomów reprezentujących wszystkie pary chromosomów zwany jest genotypem (genomem) haploidalnym (Łuczyński 2008).

**inżynieria chromosomowa** – tworzenie wektorów chromosomowych jako potencjalnych systemów dostarczania genów do genomów biorców, przy czym wektory takie byłyby sprawniejsze niż stosowane w systemach transgenezy (Irvine i inni 2005). W porównaniu z systemami typowymi dla inżynierii genetycznej, wektory uzyskane metodą inżynierii chromosomowej mają szereg zalet. Jedną z najważniejszych jest to, że chromosomy poddane inżynierii mogą przenosić bardzo duże zespoły genów (Irvine i inni 2005).

**inżynieria genetyczna** – transfer genów, inaczej mówiąc „wszczepianie” DNA genu(-ów) dawcy do organizmu biorcy. Celem transferu genu jest udoskonalenie organizmu biorcy. Nowy gen może pochodzić od jakiegokolwiek organizmu i może warunkować, na przykład, odporność na choroby albo szybszy wzrost biorców genu. W 1985 roku opublikowano wyniki pierwszych badań na temat ryb transgenicznych (Zhu i inni 1985). Od tego czasu poddano zabiegom inżynierii genetycznej ponad 30 gatunków ryb, w tym takich, które należą do najważniejszych gatunków ryb hodowlanych świata. Jak dotąd najwięcej uwagi poświęcono zwiększeniu tempa wzrostu ryb oraz poprawieniu współczynnika pokarmowego (Devlin i inni 2004). Osiągnięcia inżynierii genetycznej nie znalazły jak dotąd zastosowania w produkcji ryb. Przyczyn



niepowodzenia wdrożenia wyników badań do praktyki gospodarczej upatruje się między innymi w sferze przepisów dotyczących inżynierii genetycznej (Aerni 2004, Devlin i inni 2006).

**inżynieria genomowa** – manipulowanie całymi haploidalnymi genomami, umożliwiające uzyskanie rozmaitych genomów diploidalnych (na przykład hybrydy międzygatunkowe, gynogenoty, androgenoty) i poli-ploidalnych (na przykład triploidy, triploidalne hybrydy międzygatunkowe, tetraploidy) (Łuczyński 2008).

**mejoza** – każda komórka zawierająca jądro posiada pełny zestaw chromosomów osobnika, jednak najważniejsze są chromosomy zawarte w jądrach gametocytów. Te chromosomy i położone na nich geny osobnika znajdują się w gametach (jajach albo plemnikach) rozwijających się z gametocytów, a więc zostaną przekazane następnym pokoleniom. W procesie tworzenia się komórek rozrodczych, gametocyty przechodzą podział redukcyjny zwany mejozą. Mejoza różni się od mitozy (podziału komórek somatycznych, nie-płciowych) tym, iż w wyniku mejozy powstają haploidalne ( $n$ ) gamety, które zawierają tylko jeden chromosom z każdej pary. Podczas mejozy zachodzą trzy ważne procesy. Pierwszy z nich następuje w początkowej fazie mejozy, gdy każdy chromosom ulega replikacji, po czym zreplikowane chromosomy homologiczne (czyli stanowiące parę) łączą się ze sobą. Takie „wiązki” czterech jednostek zwane są tetradami. Chromosomy składające się na daną tetradę ciasno owijają się wokół siebie, dwie (lub więcej) jednostki tworzące tetradę ulegają pęknięciu, a części pochodzące z różnych homologów łączą się w nowe jednostki. Gdy to następuje, materiał genetyczny jest wymieniany pomiędzy chromosomami. Proces ten (zwany crossing-over) zwiększa zasoby genotypowej i fenotypowej różnorodności populacji (Tave 1986). Drugim ważnym procesem mejozy jest podział redukcyjny, który zmniejsza liczbę chromosomów ze stanu diploidalnego ( $2n$ ) do stanu haploidalnego ( $n$ ). Podczas tego podziału chromosomy wszystkich par oddalają się od siebie, przy czym każdy chromosom danej pary wędruje do jednego z dwóch gametocytów drugiego rzędu. Podział redukcyjny nie rozdziela połówek zreplikowanych chromosomów (jako że każdy chromosom został już zreplikowany); podział ten rozdziela chromosomy homologiczne stanowiące poszczególne pary. Ostatnim procesem mejozy jest tak zwany podział nieredukcyjny. Podczas tego podziału połowy zreplikowanych chromosomów rozchodzą się do osobnych komórek. Powstające w tym momencie gamety są już haploidalne, gdyż każda z nich zawiera tylko po jednym chromosomie z każdej pary chromosomów. Na przykład ryba, której diploidalny genom składa się z 20 chromosomów (10 par chromosomów) wytwarza gamety (jaja albo plemniki) zawierające 10 chromosomów (Łuczyński 2008).

**mitoza** – każda komórka zawierająca jądro ma pełny zestaw chromosomów danego osobnika. Gdy komórki somatyczne (nie-płciowe) podlegają

podziałowi komórkowemu zwanemu podziałem mitotycznym, najpierw każdy chromosom ulega replikacji na dwie chromatydy. W pewnym momencie każdy chromosom jest już zduplikowany na całej swej długości z wyjątkiem rejonu centromeru. Następnie centromer dzieli się, chromatydy stają się niezależnymi chromosomami i rozchodzą się do przeciwnych biegunów komórki. Wokół dwóch zgrupowań chromosomów siostrzanych odtwarzana jest błona jądrowa, a cytoplazma dzieli się na dwie części. W wyniku mitozy powstają dwie komórki potomne o takiej samej genetycznej zawartości jądra (i o zbliżonych ilościach cytoplazmy) (King 1968).

**oogeneza** – proces powstawania jaj. Końcowy rezultat oogenezy różni się pod jednym względem w stosunku do procesu spermatogenezy. Oocyty pierwotne dzielą się asymetrycznie, w wyniku czego powstają dwie komórki o różnych rozmiarach: większa komórka która będzie się przekształcać w oocyt oraz mniejsza komórka zwana ciałkiem kierunkowym (inaczej: biegunowym). Tak więc gdy oocyt pierwotny dzieli się, formuje się haploidalny oocyt drugiego rzędu i pierwsze ciałko kierunkowe. Gdy oocyt drugiego rzędu ulega podziałowi, znowu na dwie komórki o różnych rozmiarach, powstaje dojrzały oocyt (komórka jajowa) i kolejne ciałko kierunkowe. Ciałka kierunkowe już się dalej nie rozwijają i ostatecznie ulegają degeneracji (u niektórych gatunków zwierząt pierwsze ciałko kierunkowe dzieli się na dwa haploidalne ciałka kierunkowe (w takich przypadkach po zakończeniu mejozy powstaje jedna haploidalna komórka jajowa (oocyt) i trzy haploidalne ciałka biegunowe) (Passarge 1995, Łuczyński 2008).

**ploidalność organizmu** – liczba kopii haploidalnego genomu, które zawierają komórki danego organizmu. Zwykle dwie haploidalne gamety (jajo i plemnik) łączą się w diploidalną zygotę. Jednak bywają żywotne organizmy triploidalne posiadające trzy genomy haploidalne, organizmy tetraploidalne, których komórki zawierają cztery genomy haploidalne, oraz organizmy o genomach składających się z licznych genomów haploidalnych, zwane ogólnie organizmami poliploidalnymi. Ponieważ jaja większości ryb uwalniane są do wody gdzie następuje ich zapłodnienie, manipulowanie genomami ryb jest stosunkowo łatwe. Umożliwia ono uzyskiwanie embrionów poliploidalnych a także takich zarodków diploidalnych, których komórki zawierają wyłącznie genomy matczyne (gynogenoty) albo tylko genomy ojcowskie (androgenoty). Stosunkowo łatwo też uzyskać hybrydy międzygatunkowe, poliploidalne hybrydy międzygatunkowe albo klony (Pandian i Koteeswaran 1998, Łuczyński 2008).

**spermatogeneza** – formowanie się plemników, które w sensie genetycznym nie różni się od procesu powstawania jaj (oocytów). Podczas spermatogenezy, po zakończeniu mejozy z jednej wyjściowej komórki linii płciowej powstają cztery haploidalne ( $n$ ) dojrzałe gamety (plemniki) (Łuczyński 2008).