

TARTALOMJEGYZÉK

I. BEVEZETÉS.....	2
I. 1. Célkitűzések.....	3
II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
II. 1. A halspermiumok aktivációjának folyamata	4
II. 2. A halsperma minősége.....	4
II. 2. 1. A sperma kinyerés utáni kezelése	5
II. 3. Spermavizsgálat.....	7
II. 3. 1. Toxikológiai célú spermavizsgálat.....	9
II. 4. A zebradánió (<i>Danio rerio</i>)	9
II. 4. 1. Általános jellemzők	9
II. 4. 2. A zebradánió mint kísérleti állat.....	10
II. 4. 3. A zebradánió-sperma jellemzői.....	11
II. 4. 4. Zebradánió sperma toxikológiai célú vizsgálata.....	12
II. 5. Nátrium-fluorid.....	13
II. 6. 5-fluorouracil.....	14
III. ANYAG ÉS MÓDSZER	16
III. 1. A nátrium-fluorid (NaF) hatása a zebradánió spermiumok motilitására <i>in vivo</i>	17
III. 2. Az 5-fluorouracil (5-FU) hatása a zebradánió spermiumok motilitására <i>in vivo</i>	18
III. 3. A spermavizsgálat során alkalmazható immobilizáló és aktiváló oldatok összehasonlítása	18
III. 4. A nátrium-fluorid (NaF) spermára kifejtett hatásának vizsgálata <i>in vitro</i>	19
III. 5. Az 5-fluorouracil (5-FU) spermára kifejtett hatásának vizsgálata <i>in vitro</i>	20
III. 6. Az eredmények feldolgozása	21
IV. EREDMÉNYEK	22
IV. 1. A nátrium-fluorid (NaF) hatása a zebradánió spermiumok motilitására <i>in vivo</i>	22
IV. 2. Az 5-fluorouracil (5-FU) hatása a zebradánió spermiumok motilitására <i>in vivo</i>	23
IV. 3. A spermavizsgálat során alkalmazható immobilizáló és aktiváló oldatok összehasonlítása	24
IV. 4. A nátrium-fluorid (NaF) spermára kifejtett hatásának vizsgálata <i>in vitro</i>	26
IV. 5. Az 5-fluorouracil (5-FU) spermára kifejtett közvetlen hatásának vizsgálata	27
V. ÉRTÉKELÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK	29
V. 2. Következtetések.....	32
VI. ÖSSZEFOGLALÁS.....	33

IRODALOMJEGYZÉK

- ALAVI, S.M.H., COSSON, J. (2006): Sperm motility in fishes (II). Effects of ions and osmolality: A review. - *Cell Biology International* 30: 1-14.
- BESSE, J.P., LATOUR, J.F., GARRIC, J. (2012): Anticancer drugs in surface waters. What can we say about the occurrence and environmental significance of cytotoxic, cytostatic and endocrine therapy drugs? - *Environment International* 39: 73-86.
- BILLARD, R. (1981): Short-term preservation of sperm under oxygen atmosphere in Rainbow trout, *Salmo gairdneri*. - *Aquaculture* 23: 287-293.
- BILLARD, R., COSSON, J., PERCHEC, G., LINHART, O. (1995): Biology of sperm and artificial reproduction in carp. - *Aquaculture* 129: 95-112.
- BILLARD, R., COSSON, M.P. (1992): Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. - *Journal of Experimental Zoology* 261: 122-131.
- BILLARD, R., COSSON, M.P., CHRISTEN, R. (1987): Some recent data on the biology on trout spermatozoa. - *Proceedings of the third international symposium on reproductive physiology of fish*, StJohn's, New foundland, pp. 187-190.
- BILLARD, R., PETIT, J., JALABERT, B., SZOLLOSI, D. (1974): Artificial insemination in trout using a sperm diluent. - In: BLAXTER, O.H.S. (ed.). *Symposium on the early life history of fish*. Springer, Berlin, pp. 715-723.
- CAMARGO, J.A. (2002): Fluoride toxicity to aquatic organisms: a review. - *Chemosphere* 50: 251-264.
- CHINOY, N.J., NARAYANA, M.V. (1994): In vitro fluoride toxicity in human spermatozoa. - *Reproductive Toxicology* 8 (2): 155-159.
- COSSON, J., FEDOROV, P., DZYUBA, V. (2013): Energetic aspects of fish sperm motility. - *Book of abstracts, 4th International Workshop on the Biology of Fish Gametes*, Albufeira, Portugal, 17-20 September 2013, 36-37. p.
- COSSON, M.P., BILLARD, R., GATTI, J.L., CHRISTEN, R. (1985): Rapid and qualitative assessment of trout sperm motility using stroboscopy. - *Aquaculture* 46: 71-75.
- DVORÁKOVÁ-HORTOVÁ, K., SANDERA, M., JURSOVÁ, M., VASINOVÁ, J., PEKNICOVÁ, J. (2008): The influence of fluorides on mouse sperm capacitation. - *Animal Reproduction Science* 108: 157-170.
- FAUVEL, C., SUQUET, M., COSSON, J. (2010): Evaluation of fish sperm quality. - *Journal of Applied Ichthyology* 26: 636-643.

- GREENWOOD, N.N., EARNshaw, A. (1984): Chemistry of the Elements. - Pergamon Press, Toronto.
- Hajirezaee, S., Amiri, B.M., Mirvaghefi, A. (2010): Fish milt quality and major factors influencing the milt quality parameters: A review. - African Journal of Biotechnology 9(54): 9148-9154.
- Hill, A.J., Teraoka, H., Heideman, W., Peterson, R.E. (2005): Zebrafish as a Model Vertebrate for Investigating Chemical Toxicity. - Toxicological Sciences 86(1): 6-19.
- Horn, P., Zsilinszky, S. (1993): Akvarisztika. - Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 195-200.
- Jenkins, J.A., Tiersch, T.R. (1997): A preliminary bacteriological study of refrigerated channel catfish sperm. - Journal of The World Aquaculture Society 28: 282-288.
- Jing, R., Huang, C., Bai, C., Tanguay, R., Dong, Q. (2009): Optimization of activation, collection, dilution, and storage methods for zebrafish sperm. - Aquaculture 290: 165-171.
- Kime, D.E. (1999): A strategy for assessing the effects of xenobiotics on fish reproduction. - The Science of The Total Environment 225: 3-11.
- Kime, D.E., Ebrahimi, M., Nysten, K., Roelants, I., Rurangwa, E., Moore, H.D.M., Ollevier, F. (1996): Use of computer assisted sperm analysis (CASA) for monitoring the effects of pollution of sperm quality of fish; application to the effects of heavy metals. - Aquatic Toxicology 36: 223-237.
- Kime, D.E., Van Look, K.J.W., McAllister, B.G., Huyskens, G., Rurangwa, E., Ollevier, F. (2001): Computer-assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. - Comparative Biochemistry and Physiology Part C 130: 425-433.
- Kosjek, T., Heath, E. (2011): Occurrence, fate and determination of cytostatic pharmaceuticals in the environment. - Trend sin Analytical Chemistry 30(7).
- Krasznai, Z., Marian, T., Balkay, L., Gasper, R.J., Tron, L. (1995): Potassium channels regulate hypoosmotic shock induced motility of Common Carp, *Cyprinus carpio*, sperm. - Aquaculture 129: 123-128.
- Krasznai, Z., Marian, T., Izumi, H., Damjanovich, S., Balkay, L., Tron, L., Morisawa, M. (2000): Membrane hyperpolarization removes inactivation of Ca channels leading to Ca influx and initiation of sperm motility in the common carp. - Biophysics 97: 2052-2067.

- KUSA, M. (1950): Physiological analysis of fertilization in the egg of the salmon, *Onchorynchus keta*. I. Why are the eggs not fertilized in isotonic Ringer solution. - *Annotationes Zoologicae Japonenses* 24: 22-28.
- LELE, Z., KRONE, P. H. (1996): The zebrafish as a model system in developmental, toxicological and transgenic research. - *Biotechnology Advances* 14(1): 57-72.
- LONGLEY, D.B., HARKIN, D.P., JOHNSTON, P.G. (2003): 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. - *Nature Reviews Cancer* 3(5): 330–338.
- LONGLEY, D.B., JOHNSTON, P.G. (2006): 5-Fluorouracil, Molecular mechanism of cell death. - In: Srivastava, R. (ed.). *Apoptosis, Cell Signaling, and Human Diseases: Molecular Mechanisms*, Volume 1. Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- LU, J.C., CHEN, F., XU, H.R., HUANG, Y.F., LU, N.Q. (2011): Comparison of Three Sperm-Counting Methods for the Determination of Sperm Concentration in Human Semen and Sperm Suspensions. - *Labmedicine* 38(4): 232-236.
- MANSOUR, N., LAHNSTEINER, F., PATZNER, R.A. (2002): The spermatozoon of the African catfish: fine structure, motility, viability and its behaviour in seminal vesicle secretion. - *Journal of Fish Biology* 60: 545-560.
- MCALLISTER, B.G., KIME, D.E. (2003): Early life exposure to environmental levels of the aromatase inhibitor tributyltin causes masculinisation and irreversible sperm damage in zebrafish (*Danio rerio*). - *Aquatic Toxicology* 65: 309-316.
- MCANDREW, B.J., RANA, K.J., PENMAN, D.J. (1993): Conservation and preservation of genetic variation in Aquatic organisms. - In: Muir, J.R., Roberts, R.J. (eds.). *Recent Advances in Aquaculture*, pp. 297-336.
- MILLS, D. (1998): *Akvárium halak*. Panemex Kft., Budapest, pp. 60-61.
- MORISAWA, M., SUZUKI, K., SHIMIZU, H., MORISAWA, S., YASUDA, K. (1983): Effect of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. - *Journal of Experimental Zoology* 107: 95-103.
- PERCHEC, G., COSSON, J., ANDRE, F., BILLARD, R. (1995a): Degradation of the quality of carp sperm by urine contamination during stripping. - *Aquaculture* 129: 135-136.
- PERCHEC, G., JEULIN, C., COSSON, J., ANDRÉ, F., BILLARD, R. (1995b): Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa. - *Journal of Cell Science* 108: 747-753.
- PERCHEC, G., PAXION, C., COSSON, J., JEULIN, C., FIERVILLE, F., BILLARD, R. (1998): Initiation of carp spermatozoa motility and early ATP reduction after milt contamination by urine. - *Aquaculture* 160: 317-328.

- RANA, K. (1995): Preservation of gametes. - In: BROMAGE, N.R., ROBERTS, R.J. (eds). Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Oxford, Blackwell, pp. 53-75.
- RAO, N.C.R. Fluoride and environment – a review. - In: BUNCH, M.J., SURESH, V.M., KUMARAN, T.V. (eds). Proceedings of the Third International Conference on Environment and Health, Chennai, India, 15-17 December, 2003. Chennai: Department of Geography, University of Madras and Faculty of Environmental Studies, York University, pp 386 – 399.
- RURANGWA, E., KIME, D.E., OLLEVIER, F., NASH, J.P. (2004): The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. - *Aquaculture* 234: 1-28.
- SAAD, A., BILLARD, R. (1987): Spermatozoa production and volume of semen collected after hormonal stimulation in the carp, *Cyprinus carpio*. - *Aquaculture* 65: 67–77.
- SCHEURING, L. (1925): Biologische und physiologische untersuchungen am Forellensperma. - *Archiv für Hydrobiologie* 4: 187-318.
- TANIMOTO, S., KUDO, Y., NAKAZAWA, T., MORISAWA, M. (1994): Implication that potassium Flux and increase in intracellular calcium are necessary for the initiation of sperm motility in salmonid fishes. - *Molecular Reproduction and Development* 39: 409-414.
- THRESHER, R., GURNEY, R., CANNING, M. (2011): Effects of lifetime chemical inhibition of aromatase on the sexual differentiation, sperm characteristics and fertility of medaka (*Oryzias latipes*) and zebrafish (*Danio rerio*). - *Aquatic Toxicology* 105: 355-360.
- VAN LOOK, K.J. (2001): The development of sperm motility and morphology techniques for the assessment of the effects of heavy metals on fish reproduction. - PhD thesis. University of Sheffield.
- WILSON-LEEDY, J.G., INGERMANN, R.L. (2007): Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology*, 67: 661-672.
- WILSON-LEEDY, J.G., KANUGA, M.K., INGERMANN, R.L. (2009): Influence of osmolality and ions on the activation and characteristics of zebrafish sperm motility. - *Theriogenology* 71: 1054-1062.
- ZHANG, J., LIANG, C., MA, J., NIU, R., WANG, J. (2006): Effects of sodium fluoride and sulfur dioxide on sperm motility and serum testosterone in male rats. - *Research report Fluoride* 39(2): 126-131.
- WHO Prevention of Oral Diseases, 1987. - WHO Offset Publication 103. WHO, Geneva
- CMPMedica Információs Kft. (2008): PHARMINDEX

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, aki munkámban segítségemre volt. Köszönettel tartozom konzulenseimnek, Dr. Horváth Ákosnak, Kovács Róbertnek és Bernáth Gergelynek, akikhez mindig fordulhattam kérdéseimmel, és tanácsaikkal, valamint aktív közreműködésükkel lehetővé tették kísérleteim megvalósítását. Köszönetet szeretnék mondani Dr. Csenki-Bakos Zsoltnak, aki lehetőséget biztosított arra, hogy a Halgazdálkodási Tanszék zebradániós laboratóriumában elvégezhessem vizsgálataimat, valamint szakmai tudásával hozzájárult kísérleteim megvalósításához.

TÉTELES SZERZŐI HOZZÁJÁRULÁS

Alulírott Kollár Tímea a dolgozatban leírt munkafolyamatok közül a:

- NaF, MS-222, pontyféle immobilizáló és aktiváló oldatok kikeverését,
 - a NaF *in vivo* vizsgálata során az egyedek kezelését,
 - az *in vitro* vizsgálatok során az egyedek fejését,
 - a motilitásméréseket,
 - a statisztikai analízist
- végeztem el.

Gödöllő, 2014. május 2.

.....
aláírás