

Криоконсервирование спермы стерляди (*Acipenser ruthenus*) с использованием криозащитной среды на основе ДМСО

К.И. Буцкий, А.Ю. Пуговкин, Е.Ф. Копейка

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Cryopreservation of Sterlet Sperm (*Acipenser ruthenus*) Using DMSO-Based Cryoprotective Medium

K.I. Butskiy, A. Yu. Puhovkin, Ye.F. Kopeika

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Для большинства видов рыб существуют методы криоконсервирования спермы, использование которых осложняется вариабельностью качества как нативных, так и криоконсервированных гамет, что обусловлено индивидуальными особенностями организма самца.

Цель работы – оценка разработанного нами метода криоконсервирования спермы стерляди, а также сравнение качества криоконсервированной спермы после различных гормональных стимуляций.

Эксперименты проводили на самцах стерляди *Acipenser ruthenus* ($n = 7$) в начале весны (12°C). Для криоконсервирования спермы использовали следующую среду: 2,5 М ДМСО, Трис-НСI буфер (рН 8,1), яичный желток 100 г/л. Образцы замораживали по следующей программе: от 20 до -20°C при 3 град/мин; от -20 до -80°C при 20 град/мин; от -80 до -196°C при 100 град/мин. Оттаивание проводилось в течение 40 с при температуре воды 40°C . Для стимуляции созревания спермы рыб использовали гормоны «Nerestin» (Россия) – $0,2$ мл/кг; «Surfagon» (Россия) – 1 мкг/кг; «Metocloramide» (Украина) – 5 мг/кг. Подвижность сперматозоидов оценивали визуально.

Подвижность свежеполученных сперматозоидов после стимуляции гормонами «Surfagon» и «Metocloramide» составляла $(86,3 \pm 9,1)\%$, а после стимуляции «Nerestin» $(72,8 \pm 9,8)\%$. После криоконсервирования спермы подвижность сперматозоидов существенно не изменилась и составляла $(78,8 \pm 6,7)\%$ («Surfagon» + «Metocloramide») и $(67,7 \pm 10,6)\%$ («Nerestin»).

Таким образом, использование «Surfagon» и «Metocloramide» для гормональной стимуляции самцов стерляди позволило получить сперму лучшего качества по сравнению со стимуляцией «Nerestin».

For most fish species, there are the methods for sperm cryopreservation, which use is complicated by the variability of quality of both native and cryopreserved gametes, because of to the individual characteristics of males.

The research aim was to test the developed by us method of cryopreservation of sterlet sperm and to compare the quality of cryopreserved sperm after various hormonal stimulations.

The experiments were performed in male sterlet (*Acipenser ruthenus*) ($n = 7$) during early spring (12°C). For cryopreservation of sperm, the following medium was used: 2.5 M DMSO, Tris-HCl buffer (pH 8.1), egg yolk 100 g/l. The freezing was carried out according to the following program: from 20 down to -20°C with the rate of 3 deg/min, from -20 down to -80°C with the rate of 20 deg/min, from -80 down to -196°C with the rate of 100 deg/min. The thawing was carried out in a water bath at 40°C for 40 s. To stimulate the spermiation of sperm, the following hormones were used: 0.2 ml/kg Nerestin (Russia) and 1 mg/kg Surfagon (Russia) + 5 mg/kg Metocloramide (Ukraine). Sperm motility was visually assessed.

Motility of freshly procured spermatozoa was: $(86.3 \pm 9.1)\%$ after stimulation with Surfagon + Metocloramide and $(72.8 \pm 9.8)\%$ after stimulation with Nerestin. Motility did not change significantly after cryopreservation of sperm. It was $(78.8 \pm 6.7)\%$ (Surfagon + Metocloramide) and (67.7 ± 10.6) (Nerestin).

Thus, the use of Surfagon + Metocloramide for hormonal stimulation of sterlet males allowed to obtain the sperm of better quality in comparison with those stimulated with Nerestin.

