

Проницаемость мембран сперматозоидов стерляди (*Acipenser ruthenus* L) и карпа (*Cyprinus carpio* L)

А.Ю. Пуговкин, К.И. Буцкий

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Spermatozoa Membrane Permeability in Sterlet (*Acipenser ruthenus* L) and Carp (*Cyprinus carpio* L)

A.Y. Puhovkin, K.I. Butskiy

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

Задачей исследования было сравнение проницаемости мембран сперматозоидов стерляди и карпа для молекул воды.

Материалы и методы. Самцов стерляди содержали в бассейне с температурой воды 15°C. Сперму получали через 24 ч после гормональной стимуляции препаратом «Нерестин-5а» («А-БИО», Россия). Проницаемость мембран сперматозоидов стерляди для молекул воды (L_p) определяли фотометрическим способом [А.Ю. Пуговкин и соавт., 2014].

Результаты. Ранее сообщалось, что на протяжении периода движения сперматозоидов стерляди их клеточный объем не изменяется [О. Bondarenko *et al.*, 2013]. На основании этого авторами предполагалось, что мембраны сперматозоидов практически не имеют аквапоринов и вода медленно проникает через мембрану путем диффузии. Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют в пользу того, что в гипотонических условиях происходит увеличение объема сперматозоидов стерляди за счет проникающих внутрь молекул воды, что позволяет определить проницаемость мембран сперматозоидов фотометрическим способом. Получена зависимость L_p от температуры среды инкубации в интервале 10...30°C. При 20°C L_p составляет около 0,3 мкм/(атм×мин), тогда как для сперматозоидов карпа $L_p = 0,17$ мкм/(атм×мин) [А.Ю. Пуговкин и соавт., 2014].

По всей видимости, относительное изменение объема сперматозоидов стерляди меньше, чем сперматозоидов карпа в идентичных условиях, однако время установления равновесного значения объема выше, что говорит о более высокой проницаемости для молекул воды. Учитывая, что выживаемость сперматозоидов карпа после криоконсервирования обычно не превышает 40–60%, в то время как эффективность криоконсервирования спермы стерляди достигает 100%, можно предположить, что проницаемость мембран – одна из причин, определяющих криоустойчивость сперматозоидов рыб.

Показано, что кратковременная экспозиция сперматозоидов карпа в гипотонической среде перед добавлением криозащитной среды увеличивает эффективность криоконсервирования за счет повышения проницаемости мембран сперматозоидов [В.В. Dzyuba *et al.*, 2013]. В работах Е.Н. Пономаревой и соавт. (2009) для повышения проницаемости мембран применялся метод электростимуляции, что также приводило к увеличению выживаемости сперматозоидов.

Выводы. Проницаемость мембран сперматозоидов стерляди для молекул воды выше по сравнению с данным показателем карповых рыб, что, вероятно, является одной из причин их более высокой выживаемости после криоконсервирования.

The aim of the study was to compare the membrane permeability of sterlet and carp spermatozoa for water molecules.

Materials and methods. Sterlet males were kept in the tank with 15°C water. Sperm was obtained in 24 hours after hormonal stimulation with Nerestin-5a (A-BIO, Russia). Membrane permeability of sterlet spermatozoa for water molecules (L_p) was determined photometrically [A. Yu. Puhovkin *et al.*, 2014].

Results. It was previously reported, that during the period of sterlet spermatozoa movement their cell volume remained unchanged [O. Bondarenko *et al.*, 2013]. On this basis the authors suggested that spermatozoa membranes had virtually no aquaporins and water slowly penetrated through the membrane *via* diffusion. The results of our study show that cell volume of sterlet spermatozoa increases due to penetrating of water molecules into the cell in hypotonic conditions, which allows determining the spermatozoa membrane permeability photometrically. The dependence of L_p vs. the temperature of incubation medium within the range of 10... 30°C was obtained. At 20°C the L_p was about 0.3 $\mu\text{m}/(\text{atm}\times\text{min})$, whereas for carp spermatozoa $L_p = 0.17$ $\mu\text{m}/(\text{atm}\times\text{min})$ [A. Yu. Puhovkin *et al.*, 2014].

A relative change in sterlet spermatozoa volume was apparently less than for carp ones under identical conditions, however, the volume equilibration time was higher, that pointed to a higher permeability for water molecules. Considering that carp spermatozoa survival after cryopreservation usually does not exceed 40–60%, while the efficiency of sterlet sperm cryopreservation reaches 100%, it can be assumed that the membrane permeability is one of the factors that influences the fish sperm cryoresistance.

It was shown that a short-term exposure of carp spermatozoa in hypotonic medium before adding cryoprotective medium increased the efficiency of cryopreservation by augmenting membrane permeability of spermatozoa [В.В. Dzyuba *et al.*, 2013]. Е.Н. Ponomareva *et al.* (2009) reported the application of electrical stimulation to increase the permeability of membranes.

Conclusions. Membrane permeability of sterlet spermatozoa for water molecules is higher than respective membrane permeability of carp spermatozoa, that is probably one of the reasons of their higher survival after cryopreservation

