

# ТЕХНОЛОГІЇ В АКВАКУЛЬТУРІ

---

Ribogospod. nauka Ukr., 2016; 2(36): 5-21

DOI: <http://dx.doi.org/10.15407/fsu2016.02.005>

УДК [639.3.034:621.59]:597.442

## КРІОКОНСЕРВУВАННЯ СТАТЕВИХ ПРОДУКТІВ — ЕФЕКТИВНИЙ МЕТОД ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРИЗНОМАНІТТЯ ОСЕТРОВИХ ВИДІВ РИБ (ОГЛЯД)

**І. С. Кононенко**, [kononenkois@mail.ru](mailto:kononenkois@mail.ru), Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

**В. В. Бех**, [bekh@if.org.ua](mailto:bekh@if.org.ua), Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

---

**Мета.** *Останніми роками широкого застосування отримало кріоконсервування статевих продуктів як один із доступних і, в деяких випадках, єдино можливий спосіб збереження та підтримання чисельності зникаючих видів риб, в тому числі осетрових. В теперішній час метод кріоконсервування представлений різноманітними методиками та способами з використанням індивідуальних та видових підходів. Численні публікації з питання кріоконсервування сперми риб здебільшого містять нестабільні результати та сумнівні дані. Таким чином, аналіз існуючої інформації про загальні принципи та методи кріоконсервування сперми риб є важливим питанням для подальшої роботи. Зокрема, узагальнення існуючої інформації дозволить більш ефективно та раціонально планувати постановку експерименту та отримувати бажані результати з вищою достовірністю.*

**Результати.** *У роботі розглянуті основні принципи найбільш широко застосовуваних методів кріоконсервування сперми риб, аналіз основних чинників впливу на результати заморожування/розморожування, а також аналіз результатів, отриманих при використанні різноманітних способів та методів кріоконсервування. Крім того, в статті висвітлюється питання важливості створення та повноцінного функціонування кріобанків сперми риб.*

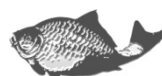
**Наукова новизна.** *Дана робота є узагальненням існуючої інформації з питань низькотемпературного кріоконсервування сперми риб. Інформація представлена у формі послідовного викладення результатів досліджень, отриманих на кожному з етапів заморожування/розморожування при використанні різних методик, а також результатів впливу різних чинників. Крім того, дається короткий опис досягнень у галузі кріоконсервування та основних принципів створення кріобанків сперми риб.*

**Практична значимість.** *Представлений огляд класичних та сучасних літературних даних з питань кріоконсервування, які можуть бути використані при плануванні, модернізації та проведенні дослідів із заморожування/розморожування сперми риб.*

**Ключові слова:** *кріоконсервування, заморожування/розморожування, кріопротектори, рідкий азот, низькотемпературне зберігання, методи кріоконсервування, сперма риб, кріобанк сперми, колекція зразків сперми.*

---

© І. С. Кононенко, В. В. Бех, 2016



## ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Осетрові — важлива промислова група риб, представники якої знаходяться на межі зникнення. Різде скорочення запасів осетрових риб і зникнення окремих видів за останні 20 років можна пояснити не лише різким збільшенням браконьєрського вилову чи надмірним промислом, але і слабким поповненням та генетичною неповноцінністю молоді, що випускається заводами. Масштаби природного відтворення не завжди повною мірою можуть забезпечити підтримання чисельності того чи іншого виду на оптимальному рівні. Тому єдиним способом забезпечити його достатній рівень є підвищення заводського відтворення, основною проблемою якого є відсутність зрілих та якісних плідників. Саме тому останніми роками спостерігається підвищений інтерес до кріоконсервування статевих продуктів об'єктів різної організації як до одного із найбільш перспективних та доступних на даний час способів отримання повноцінних особин для збереження біорізноманіття та відновлення чисельності видів [2, 20].

Кріоконсервування як наука має швидкі темпи розвитку та є ефективним, зручним та в деяких випадках єдиною можливим способом довготривалого збереження біологічного матеріалу з наступним використанням для штучного відтворення та генетичного поліпшення рідкісних та зникаючих видів або популяцій, що доведено як теорією, так і практикою [29]. А у випадку з такими видами риб, як осетрові, кріоконсервування — це єдиний спосіб не втратити їх у природних умовах.

На даний час у світі розроблені і успішно застосовуються в медицині, сільському господарстві та науці методи кріоконсервування окремих клітин, тканин (кров, сперма), ембріонів, зародків та личинок, зокрема, таких риб, як форелі, тріски, коропа, даніо, золотої рибки, в'юна [11].

Значне розроблення методів кріоконсервування сперматозоїдів розпочалося в першій половині ХХ ст. з відкриттям першого кріопротектора — гліцерину, властивості якого дозволяють зберігати і захищати функції сперматозоїдів при заморожуванні. Перші спроби заморожування сперми тварин належать І. І. Іванову, дослідження якого у 1907 р. показали, що сперма жеребця за охолодження до  $-15^{\circ}\text{C}$  відновлює свою запліднювальну здатність. Віктору Милованову з дослідниками у 1946 р. вдалося винайти спосіб довготривалого збереження сперматозоїдів у рідкому азоті, завдяки чому було отримано потомство кроликів з використанням сперми після довготривалого її заморожування. Позитивні результати вдалося отримати у 1949 р. К. Польджу з колегами, які за допомогою швидкого заморожування сперми отримали потомство мишей. Для цього вони використовували захисне середовище з гліцерином за температури рідкого азоту  $-196^{\circ}\text{C}$ , яка і дотепер широко використовується в сучасній кріобіології [27].

Розробленню методів кріоконсервування сперми риб сприяло вивчення механізму природної адаптації арктичних риб до низьких температур та їх здатності зберігати активність в переохоложеному стані за незмінної точки замерзання внутрішнього середовища. В крові та тканинах риб і безхребетних, стійких до низьких температур і заморожування, були виявлені речовини, що



мають кріозахисні властивості. Це особливі антифризні макромолекули білкової природи, присутність яких у плазмі крові полярних риб затримує ріст кристалів льоду. Спонтанне утворення кристалів льоду в клітині та поза нею порушує структуру клітини, а також викликає сольовий (осмотичний) шок з підвищенням концентрації солей в клітині і, як результат, — її загибеллю [6, 11]. Процес виникнення і росту кристалів льоду залежить від інтенсивності охолодження і переохолодження, швидкості заморожування-розморожування, природи і концентрації розчинених речовин [16].

Після проведення ряду дослідів було встановлено, що додавання антифризних глікопротеїнів, отриманих із сироватки крові арктичних риб, до кріозахисних середовищ, у 2–3 рази збільшує тривалість зберігання сперматозоїдів і майже у 1,5–2,0 рази — їх запліднювальну здатність [10]. Ці дослідження дають змогу не лише зрозуміти основні адаптаційні стратегії виживання при охолодженні та заморожуванні, але також ідентифікувати і виділити природні ендегенні кріозахисні чинники та використати природні моделі кріозахисту для розроблення способів кріоконсервування і тривалого зберігання біологічного матеріалу.

Загалом, досягнення в галузі кріобіології водних організмів порівняно з теплокровними тваринами менш вражаючі, що пояснюється, перш за все, тим, що дослідження щодо кріоконсервування гідробіонтів розпочаті відносно недавно і масштаби цих робіт незначні [11].

На відміну від ссавців, для кріоконсервування гамет та ембріонів яких ефективно застосовуються кріобіологічні технології, що забезпечують тривале зберігання без втрат зі збереженням життєздатності та потенції для розвитку, проблема зберігання гамет та ембріонів риб тими ж способами залишається невирішеною та має істотні обмеження. Багаточисельні спроби консервування яйцеклітин та ембріонів, які були розпочаті ще в кінці 70-х років минулого століття, або закінчувалися невдало, або їх результати підлягали сумнівам. Це пояснюється, в першу чергу, цито-фізіологічними особливостями яйцеклітин і ембріонів риб, пов'язаними із розвитком поза материнським організмом, що не дозволяє зберегти їх у замороженому стані без втрати життєздатності [3].

Лише з розвитком клітинної біології та вивченням механізмів кріопошкоджень та кріозахисту клітин з'явилися перші результативні досліді кріоконсервування ембріонів риб. У роботі Копейки Є. Ф. [14] йшлося про можливість кріоконсервації зародків коропа. Кількість зародків, що вижили, складала 25%. На першому міжнародному симпозіумі «Генетичний кріобанк для аквакультури рідкісних і зникаючих видів риб та інших гідробіонтів» у 2000 р. разом російських дослідників були представлені результати кріоконсервування ембріонів *Danio rerio*. Розморожені личинки зберігали життєздатність протягом 30 днів і нормально розвивалися, мало відрізняючись від контрольних груп риб. Вивчалася можливість кріоконсервування ембріонів нивківського лускатого коропа, але отримати життєздатні личинки не вдалося внаслідок вираженого внутрішнього кристалоутворення.

Загалом, кріоконсервування зародків риб досить перспективне, оскільки, на відміну від спермій, вони несуть більш повну генетичну інформацію, а зберігання ембріонів або передличинок риб у низькотемпературних банках дасть змогу



сформувати страхові фонди посадкового матеріалу для зберігання протягом тривалого часу і подальшого їх відтворення.

Таким чином, після проведення ряду дослідів було встановлено, що повноцінно процедуру кріоконсервування у риб переносять лише сперматозоїди [3].

Саме тому найбільш розвинутою галуззю кріобіології є заморожування сперматозоїдів, що пов'язано із рядом біологічних особливостей цих клітин: генетичний матеріал у них щільно упакований, вміст води низький, що зводить до мінімуму пошкодження клітин під час замерзання, а рівень життєдіяльності в непорушному стані низький. Крім того, роботи з низькотемпературного заморожування сперматозоїдів мають велике практичне значення, оскільки використання кріоконсервованої сперми має значний потенціал у практиці управління водними біологічними ресурсами [28, 29].

З літературних джерел відомо, що досліджувалися різноманітні шляхи та способи зберігання сперми: в тілах снулих самців, у середовищі, насиченому різними газами, за понижених плюсових температур, у замороженому і висушеному станах. Пізніше клітини намагалися зберігати за температури сухого льоду ( $-78,5^{\circ}\text{C}$ ), однак потім з'ясувалося, що за цих умов якість сперми швидко знижується. За температури нижче  $-130^{\circ}\text{C}$ , за якої вже не відбувається перекристалізація льоду, помітного погіршення не виникає [1]. Але, незважаючи на складність, найбільш ефективним виявилось і залишається низькотемпературне консервування сперми риб [19].

Перші успішні результати вдалося отримати в процесі заморожування сперми риб, що нерестять у солоній воді, — оселедця та тріски. Так, англійським вченим Д. Блекстером у 1953 р. при заморожуванні сперми оселедця в розведеній морській воді дистильованою (4:1) з 12,5% гліцерину після 6 місяців зберігання з наступним заплідненням даною спермою ікри вдалося отримати 85% запліднення [30].

У середовищі, що містило хлористий натрій, гліцин, бікарбонат натрію і гліцерин за концентрацій від 9,4 до 23,8% була заморожена сперма атлантичної тріски. Після 6 днів зберігання ця сперма запліднила 36 ( $\pm 12$ )% ікри [34].

З того часу в напрямі кріоконсервування сперми риб проведено велику кількість досліджень, результати яких досить різноманітні. На сьогодні заморожування та довготривале зберігання біологічного матеріалу стало новим невід'ємним етапом біотехнології відтворення промислових та зникаючих видів риб. Високі та стабільні результати досягнуті на видах риб, що мешкають чи проводять значну частину свого життя в морській воді. Сперма прісноводних риб гірше піддається кріоконсервуванню, а результати недостатньо стабільні [39].

Нині достатньо відпрацьовані та успішно застосовуються методики кріоконсервування для багатьох прісноводних та морських видів риб. За даними деяких авторів, їх число складає близько 200. Найбільш широкого застосування отримало кріоконсервування сперми осетрових, коропових та лососевих видів риб, як перспективних об'єктів рибництва та промислу [13].

Що стосується осетрових риб, у літературі на сьогодні є досить багато інформації з технології кріоконсервування їх сперми [13, 32, 40]. Але жодна з



існуючих технологій не може гарантувати точність та високу ефективність отриманих результатів, тому їх слід розглядати як базові або типові.

Дослідження в галузі кріоконсервування сперми осетрових риб проводяться невеликою кількістю науковців (зокрема, в Україні та Росії), які пов'язують відсутність надійних технологій заморожування зі своєрідними характеристиками сперми осетрових, порівняно зі спермою кісткових риб. Ці характеристики роблять осетрових складними об'єктами з кріобіологічної точки зору. Основні відмінності сперматозоїдів осетрових риб полягають у морфології (складніша структура, наявність активної акросоми), фізіології (триваліша рухливість) і біохімії сперматозоїдів (наявність акрозину, арилсульфатази). Ще одна принципова відмінність сперми осетрових від кісткових риб — це низька осмолярність плазми сперми [38].

Тому, для успішного кріоконсервування сперми осетрових зокрема та інших видів риб загалом, необхідно розроблення видоспецифічних технологій глибокого заморожування на дослідних зразках. Необхідно для кожного окремого виду обирати режим заморожування та дефростування і варіювати середовище, особливу увагу приділяючи значенню рН, осмотичності, іонній силі розчинника, концентрації, типу кріопротектора і часу активності сперматозоїдів [2]. Як приклад, що показує необхідність адаптації існуючих методів, можна привести роботи щодо кріоконсервування сперми сахалінського осетра [36] та білуги [12]. У сахалінського осетра два роки поспіль не вдалося законсервувати сперму методом, який давав позитивні результати при заморожуванні сперми сибірського осетра. Вивчення причин показало, що мембрани сперматозоїдів у цих видів осетрових відрізняються складом фосфоліпідів. Низький вміст у мембранах фосфатидиетаноламіну і фосфатидилхоліну супроводжується зниженням кріостійкості сперміїв.

Як відомо, клітини добре зберігаються в рідкому азоті протягом тривалого часу, проте вони отримують пошкодження під час циклів заморожування-розморозування. Максимальні пошкодження клітин спостерігаються в діапазоні температур від  $-15^{\circ}\text{C}$  до  $-60^{\circ}\text{C}$ . Причинами, що можуть викликати пошкодження клітин, є наступні: коливання рН та осмотичний ефект, температурний шок, формування кристалів льоду, токсичність кріопротектора тощо. [31].

Багато науковців вважають, що відмінності в результатах з кріоконсервування зумовлені одночасним впливом низки чинників: фізіологічним станом плідників (вік, гормональне стимулювання) та умовами їх вирощування (годовля, вміст розчиненого у воді кисню), якістю сперми, фізичними чинниками (температура, вологість і т. і.), складом кріопротектора, порою року, коли проходило отримання статевих продуктів, складом активуючого розчину, низкою екологічних чинників тощо [18, 38].

Саме від того, наскільки глибокі зміни та пошкодження відбудуться в будові сперматозоїда під впливом всіх вищеперерахованих чинників, залежить успіх кріоконсервації.

Загалом, накопичені дані щодо кріоконсервування біологічних об'єктів свідчать про те, що процес довготривалого зберігання за низьких температур не чинить істотного впливу на збереження клітин після процесу



заморожування/розморожування [21]. Але все ж таки ймовірність негативних впливів виключати не можна, оскільки навіть за найретельнішого дотримання існуючих методів заморожування з наступним розморожуванням сперми спостерігається погіршення її якості на кожному етапі процесу кріоконсервування. Як наслідок, відбувається погіршення основного показника запліднювальної здатності сперми — рухливості сперматозоїдів після активації їх водою [18].

Саме тому багато проведених досліджень, описаних у літературі, спрямовані на відновлення рухливості сперматозоїдів та оцінку їх запліднювальної здатності. Цей показник, який вважають загальноприйнятим способом оцінки процесу кріоконсервування, повинен бути настільки високим, щоб гарантувати взаємодію сперматозоїда з яйцеклітиною. Не менш важливим напрямом вважається мінімізація деструктивного впливу низьких температур на спермії. Основні напрями цих досліджень — розроблення нових та удосконалення існуючих режимів заморожування/розморожування, складів кріопротекторів, які є специфічними для кожного виду риб, пошук нових стабілізаторів і біологічно активних сполук, які зв'язують внутрішньоклітинну воду, захищають структуру клітини від пошкоджень та стабілізують клітинні мембрани [10, 17].

Вибір збалансованого середовища для заморожування, яке повинно достатньо ефективно захищати об'єкт від деструктивного впливу низьких температур, а також не чинити на нього токсичного впливу та забезпечувати життєздатність та здатність до запліднення, залишається одним з найважливіших етапів біотехніки кріоконсервування.

*Кріопротектори* — це сполуки хімічної природи, які під час заморожування статевих продуктів запобігають утворенню кристалів льоду та захищають клітини від пошкоджень, стабілізуючи структуру клітинних мембран. Головна вимога до кріозахисного середовища — це створення умов, які б забезпечували здатність довготривалого виживання сперматозоїдів поза батьківським організмом та збереження їх запліднювальної здатності шляхом запобігання витратам внутрішніх енергетичних запасів [3].

Кріопротектор складається з кількох компонентів, кожен з яких виконує певну біологічну роль. На сьогодні відомо близько ста різноманітних речовин, які мають кріопротектні властивості і апробовані на різних біологічних об'єктах, однак детально вивчені властивості лише кількох десятків речовин, що найбільш широко використовуються в практиці кріоконсервування.

Незважаючи на широкий спектр перевірених кріопротекторів, найчастіше для всіх видів риб загальним є включення до кріозахисного середовища проникальних кріопротекторів — диметилсульфоксиду — ДМСО [32], етиленгліколю і диметилацетаміду (для корошових), а також непроникальних, таких як гліцерин [11] і жовток курячого яйця, лецитин якого має схожість з ліпопротеїновою мембраною сперміїв, покращує клітинний метаболізм, підвищує їх стійкість до охолодження та підтримує буферність середовища. Однак встановлено, що захисна дія жовтка може залежати від складових компонентів кріорозчину та процесу кріоконсервування.

Для консервування сперми лососевих риб використовують лецитин, витяжку з жовтка і соєвих бобів. Як основу синтетичного середовища використовують



розчин неелектроліта — глюкози, фруктози, цукрози, які часто дають позитивні результати в процесі кріоконсервування [33]. Ці цукри є матеріалом для гліколізу та дихання.

Створення нових кріозахисних середовищ проводиться на підставі вивчення механізмів кріостійкості сперматозоїдів різних видів риб у залежності від їх фізіолого-біохімічних особливостей [26].

Правильний добір оптимального складу кріозахисного розчину допоможе звести до мінімуму втрати рухливості сперматозоїдів на кожному з етапів заморожування і забезпечить максимальне виживання спермів у процесі розморожування, а також мінімізує температурний шок, який супроводжується втратою активності сперматозоїдів, що не відновлюється за нормалізації температури [35].

Але разом з позитивною дією, виявляється і токсична дія високих концентрацій кріопротектора на клітини. Це вплив на фізико-хімічні і функціональні властивості цитоплазматичних і мітохондріальних мембран сперматозоїдів, відповідальних за осмотичне регулювання та активацію рухливості, а також зміна активності ферментів. Такий вплив може відігравати вирішальну роль при відновленні клітинами процесів дихання і метаболізму, а в подальшому приводити до зниження частинами сперматозоїдів здатності до запліднення яйцеклітини. Тому для успішного кріоконсервування необхідно визначити точку рівноваги між захисною ефективністю кріопротектора і толерантною токсичністю клітин [16].

Важливе значення для збереження рухливості сперматозоїдів мають етапи заморожування/розморожування, оскільки вони є критичними. Тому для отримання повноцінних життєздатних спермів необхідно ретельно добирати параметри процесу. Заморожування може бути здійснене за допомогою програмованих температурних змін або простого занурення в рідкий азот або в пару над поверхнею рідкого азоту. Швидкість розморожування зазвичай залежить від форми і об'єму контейнера, в якому проводилося заморожування, від складу середовища і режиму заморожування. Для деконсервування заморожених зразків сперми більшості видів риб зазвичай використовують різні способи: відігрів на водяній бані за оптимальної температури 35–40°C протягом 20–40 сек. до появи рідкої фази, що дозволяє забезпечити максимальне виживання спермів. Практикують також розморожування в повітрі, проточній воді і в сольових середовищах [19, 20, 28].

Активно вивчається вплив процесу заморожування/розморожування на клітини, а також механізми кріопшкоджень і кріозахисту гідробіонтів на клітинному, субклітинному, молекулярному і організменному рівнях [11].

Більшістю досліджень на різних видах риб встановлено, що кріоконсервування не призводить до пошкоджень або шкідливих мутацій ДНК сперми, а потомство, отримане в результаті штучного запліднення ікри такою спермою, є фізіологічно повноцінним [25]. Хоча деякі дослідження описують пошкодження ДНК при зберіганні заморожених зразків [37], дане питання потребує подальшого вивчення, оскільки характеристика пошкоджень ДНК сприятиме поліпшенню процедури кріоконсервування.



Загалом, накопичені дані свідчать про відсутність негативного впливу кріоконсервування на якість потомства [4, 25]. При використанні методу глибокого заморожування як єдиного способу збереження генетичної інформації велике значення має питання тривалості зберігання замороженими клітинами життєздатності та генетичної незмінності. Оскільки сам метод кріоконсервування існує порівняно недовго, немає достатніх експериментальних даних з цього приводу. Найбільша кількість інформації міститься щодо питання зберігання сперми різних порід сільськогосподарських тварин, а також різних диких видів ссавців. Також відомо, що кріостійкість сперматозоїдів сільськогосподарських тварин перевищує таку в риб [3].

Є всі підстави вважати, що за  $-196^{\circ}\text{C}$  (температура, за якої не проходять біохімічні реакції і клітини переходять у стан анабіозу) значна частина клітин збереже життєздатність без зміни якості протягом десятків, а то і сотні років за відсутності впливу іонізуючої радіації [5].

На сьогодні існують як експериментальні, так і отримані шляхом теоретичних розрахунків дані, які показують, що допустимий час зберігання статевих клітин в стані глибокого заморожування без суттєвих пошкоджень їх організму складає не менше 200 років. Є припущення, що в дійсності він набагато більший [2].

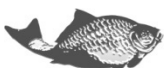
Але не слід забувати, що яким би тривалим не був термін зберігання, все ж він не є нескінечним. В умовах кріоконсервування метаболізм всередині клітин не зупиняється, а лише уповільнюється настільки, що це вже майже не впливає на тривалість зберігання.

### **Створення кріобанків сперми риб**

Необхідність збереження рідкісних і зникаючих видів риб, підтримання генетичного різноманіття природних популяцій цінних видів риб, розвиток кріоконсервування з метою збільшення тривалості зберігання статевих продуктів та інтенсивний розвиток аквакультури вимагають створення низькотемпературних генетичних банків (кріосховищ) та колекцій глибокозаморожених клітин різної організації. Це, в свою чергу, вимагає розроблення кріотехнологій, що сприятимуть вирішенню наукових і практичних проблем, які виникають при цьому [1, 23].

Хоча ідея використання кріоконсервування для збереження статевих і соматичних клітин рідкісних і зникаючих видів була висунута Вепринцевим Б. М. ще у 1978 р. і представлена на XIV Конгресі Міжнародного союзу охорони природи в Ашгабаді, доведено важливість зберігання сперми в кріобанках було лише трохи більше 10-ти років тому.

Кріобанки сперми є новим інструментом для збереження генетичного біорізноманіття, існування якого поставить на новий рівень селекційно-генетичну роботу в промислових господарствах та удосконалить методи штучного відтворення об'єктів товарного прісноводного рибицтва та марікультури. Особливо актуальним питання кріосховищ є там, де неконтрольовані інтродукція та гібридизація призводять до втрати чистих природних популяцій і генофонду [15]. При цьому з'явиться можливість уникнення інбредної депресії та інших генетичних дефектів, спроститься отримання промислових гібридів та цінних





видів промислових риб, знизиться ризик передачі різних захворювань [2, 7, 26]. Створення кріосховищ дозволить займатися відновленням виду в будь-який необхідний чи найбільш зручний момент без сезонних обмежень з використанням оптимальних методів і без загрози виродження малочисельної популяції. За умов існування кріобанку отримувати потомство можна і за відсутності зрілих самців без загрози зриву нерестової кампанії, особливо при розведенні риб, нездатних до природного розмноження в ставових умовах [17]. В ряді випадків створення низькотемпературних банків сперми сприятиме усуненню небезпеки безповоротної втрати цінних і високопродуктивних порід риб, збереженню їх генетичного стандарту і відновленню вихідних популяцій риб в умовах радіаційного і хімічного забруднення середовища шляхом створення страхових запасів сперми [20, 21]. Крім того, обсяг кріосховищ може бути легко збільшений в міру збільшення кількості заморожених зразків.

Хоча витрати і тривалість зберігання зразків у кріобанках досить важко передбачити, матеріал генетичних колекцій є високорентабельним та економічно цінним товарним продуктом, наявність якого в кріобанку дасть можливість з максимальним ефектом зберігати велику кількість генетичного матеріалу від численних особин і проводити обмін генетичним матеріалом та транспортувати в райони, де спостерігається зникнення чи різке скорочення чисельності для відновлення популяції виду [9].

Довготривале зберігання статевих продуктів риб дозволить значно знизити витрати на виведення нових порід, що значно покращить селекційно-племінну роботу. Не буде необхідності утримувати додаткову кількість самців і витрачати час на підросування їх до статевозрілих форм. Зменшення кількості плідників риб сприятиме зменшенню площ для їх утримання, зниженню трудових витрат, а це підвищить економічну ефективність штучного відтворення і товарного вирощування. Транспортування заморожених зразків, порівняно з перевезенням личинок чи цьоголіток, не викликає ніяких проблем, оскільки для цього необхідна лише місткість Дюара невеликого розміру з рідким азотом [8, 22].

Щорічне поповнення і оновлення колекцій зразків сперми дозволить розширити генофонд видів риб, яких відтворюють, а також існуватиме можливість вибору сперми з високими репродуктивними якостями для проведення селекційних робіт і товарного вирощування риб [17].

Всі перелічені альтернативи розвитку кріобанків у сукупності дадуть змогу відновити видове біорізноманіття, яке піддавалося катастрофічному скороченню як у природних, так і у штучних умовах [26] та зберегти «еволюційний потенціал», що накопичувався протягом сотень мільйонів років.

Але, незважаючи на доведену можливість повноцінного використання кріоконсервованої сперми, на сьогодні немає достатньої інформації про широке застосування її на рівні рибницьких заводів.

Детально обговорюється і залишається суперечливим питання впливу «кріориб» на природні популяції. Вважається, що такі особини можуть бути «генетично вузькими», порівняно з дикими видами. Тому для збільшення генетичного різноманіття важливо використовувати сперму диких самців [29].



Хоча в рибництві відсутні точні технологічні методи кріоконсервування сперми риб, у світовій практиці вже існує досвід створення кріобанків генетичного матеріалу тварин і рослин: диких, рідкісних, зникаючих (як домашніх, так і диких), сільськогосподарських, лабораторних, які доводять можливість застосування кріоконсервування для збереження біорізноманіття рідкісних та зникаючих видів, а також для селекційно-племінної роботи [26].

Кріобанки сперми та зародків диких тварин існують в ряді зоопарків та наукових закладів США: зоопарк Генрі Доорлі (Омаха, Небраска), зоопарк Міннесоти (Міннеаполь, Міннесота), Національний зоопарк (Вашингтон, США), зоопарк Сан-Дієго (Каліфорнія), Техаський університет (США), а також зоопарк Торонто в Канаді та Лондонський зоопарк в Англії [11].

Кріобанки зі збереження геномів риб існують в ряді країн Європи і Америки (Франція, США, Німеччина, Канада, Норвегія, Україна та ін.). У Харківському Інституті проблем кріобіології і кріомедицини зберігається колекція риб з усього колишнього Радянського Союзу. В основному це представники коропових, осетрових і лососевих риб. Є в колекції кріобанку і ті види, які вже не трапляються у живій природі, наприклад, аральський шип — вид, що зник. Наразі на зберіганні в банку знаходяться зразки, яким вже більше 25-ти років [11].

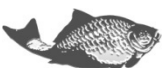
## ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Методика кріоконсервування сперми риб набуває останніми роками широкого поширення у галузі рибництва. Вона є перспективним, а в деяких випадках єдино можливим способом збереження та поповнення запасів рідкісних та зникаючих видів риб, у тому числі осетрових, які є промислово цінною групою, що знаходиться на межі зникнення.

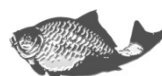
Формування в низькотемпературних генетичних банках колекцій генетичного матеріалу осетрових риб має надзвичайно важливе значення для досліджень зі збереження і відтворення їх генофонду. При втраті генетичного різноманіття його відновлення без колекцій генетичних банків буде неможливим.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Вепринцев Б. Н. Проблема сохранения генофонда / Б. Н. Вепринцев, Н. Н. Ротт. — М. : Знание, 1985. — 64 с.
2. Вепринцев Б. Н. Сохранить генофонд рыб и водных беспозвоночных / Б. Н. Вепринцев, С. А. Пилиев // Избранные труды Всероссийского научно-исследовательского института пресноводного рыбного хозяйства. Кн. 1., т. I-II. — Дмитров : Север Подмосковья, 2002. — С. 366—369.
3. Вепринцев Б. Н. Стратегия сохранения животного и растительного мира Земли / Б. Н. Вепринцев, Н. Н. Ротт // Консервация генетических ресурсов. — Пущино, 1991. — С. 5—18.
4. Вивчення впливу кріоконсервування сперми на розвиток молоді українських порід коропа / О. Л. Безусий, В. О. Черепнін, В. В. Бех [та ін.] // Рибогосподарська наука України. — 2010. — № 4. — С. 95—100.
5. Виленчик М. М. Сколько лет можно хранить зародышевые клетки в кріоконсервированном состоянии без существенного повреждения их генома / М. М. Виленчик // Консервация генетических ресурсов. — Пущино, 1983. — С. 1—21.



6. Гахова Э. Н. Крiоконсервация гамет и личинок водных беспозвоночных / Э. Н. Гахова, Н. Р. Чекурова // Биофизика живой клетки : сб. науч. трудов ИБК РАН. — 1994. — Т. 6. — С. 104—110.
7. Горбунов Л. В. Крiоконсервация половых клеток рыб на основе использования широкого диапазона скоростей теплообмена / Л. В. Горбунов, М. В. Гринжевский, А. С. Салина // Проблемы воспроизводства аборигенных видов рыб : Междунар. науч.-практ. конф., Черкассы, 20—22 апр. 2005 г. : сборник докл. — К., 2005. — С. 65—72.
8. Егоров М. А. О концепции деятельности Каспийского криобанка / М. А. Егоров // Эколого-биологические проблемы Каспийского моря : VIII Междунар. науч. конф., Астрахань, 11—12 окт. 2005 г. : матер. — Астрахань : Астраханский университет, 2005. — С. 74—75.
9. Использование новых технологий в аквакультуре / Н. В. Войнова, А. В. Мирзоян, Г. Ю. Иванов [и др.] // Холодноводная аквакультура: старт в XXI век : Междунар. симпоз., Санкт-Петербург, 8—13 сент. 2003 г. : матер. — СПб. : М-во сельского хоз-ва РФ, 2003. — С. 78—80.
10. Каранова М. В. Влияние антифризных гликопротеинов на жизнеспособность спермиев рыб в условиях длительного хранения при температуре 4°C / М. В. Каранова, Н. Д. Пронина, Л. И. Цветкова // Известия АН. — 2002. — № 1. — С. 88—92. — (Серия : Биологическая).
11. Качество криоконсервированной спермы сазанов после 25 лет хранения / Е. Ф. Копейка, С. И. Дрокин, В. В. Черепанов [и др.] // Сучасні проблеми теоретичної іхтіології : IV Міжнар. іхтіолог. наук.-практич. конф., Одеса, 7—11 вер. 2011 р. : тези. — Одеса : Феникс, 2011. — С. 136—138.
12. Концепция сохранения и устойчивого использования биоразнообразия с применением методов криоконсервации геномов гидробионтов / В. И. Ананьев, Э. Н. Гахова, В. Я. Катаонов [и др.] // Избранные труды Всероссийского научно-исследовательского института пресноводного рыбного хозяйства. Кн. 1, т. I—II. — Дмитров : Север Подмосковья, 2002. — С. 385—399.
13. Копейка Е. Ф. Замораживание спермы осетровых Азово-Черноморского бассейна / Е. Ф. Копейка // Криоконсервация репродуктивных клеток рыб и эмбрионов : сб. научн. тр. — Харьков : АН Украины, 1992. — С. 66—72.
14. Копейка Е. Ф. Криоконсервирование спермы рыб / Е. Ф. Копейка, А. Н. Новиков // Криоконсервирование клеточных суспензий. — К. : Наук. думка, 1983. — С. 204—215.
15. Копейка Е. Ф. Состояние и некоторые перспективы работ по криоконсервации половых клеток рыб / Е. Ф. Копейка, В. И. Ананьев // Рыбное хозяйство : информ. пакет ВНИЭРХ. — 1994. — Вып. 1. — С. 8—14. — (Серия Аквакультура).
16. Криобанк геномов животных и растений в институте биофизики клетки РАН / Э. Н. Гахова, В. К. Утешев, Н. В. Шишова [и др.] // Биофизика живой клетки : сб. науч. трудов ИБК РАН. — 2006. — Т. 8. — С. 14—38.
17. Криоконсервация половых клеток и эмбрионов животных на основе применения сверхвысоких скоростей замораживания-оттаивания / [ред. Горбунов Л. В., Гринжевский Н. В., Морозов И. А. — К. : ХБТЦ УААН, ИРХ УААН, 2002. — 40 с.



18. Криоконсервация репродуктивного материалы рыб: разработки Южного научного центра Российской академии наук / Е. Н. Пономарева, А. М. Тихомиров, М. М. Богатырева [и др.] // Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона : VII Междунар. конф., Керчь, 20–23 июня 2012 г. : матер. — Керчь : ЮгНИРО, 2012. — Т. 2. — С. 55—58.
19. Криоконсервация спермы лососевых рыб / Л. И. Цветкова, А. К. Богерук, О. Б. Докина [и др.] // Холодноводная аквакультура: старт в XXI век : Междунар. симпозиум : матер. Санкт-Петербург, 8–13 сент. 2003 г. : матер. — СПб., 2003. — С. 112.
20. Криоконсервирование клеточных суспензий / [ред. А. А. Цуцаева]. — К. : Наук. думка, 1983. — 240 с.
21. Пилиев С. А. Применение криоконсервации в рыбоводстве / С. А. Пилиев // Селекция рыб : сб. науч. трудов. — М. : Агропромиздат, 1989. — С. 100—105.
22. Рекрут С. В. До питання про створення кріобанку гамет риб / С. В. Рекрут, В. М. Павліщенко, М. П. Журавель // Актуальні проблеми аквакультури та раціонального використання водних біоресурсів : Міжнар. наук.-практ. конф., Київ, 26–30 вер. 2005 р. : матер. — К., 2005. — С. 217.
23. Розанов С. И. Место генетических кріобанков в решении проблемы сохранения биоразнообразия / С. И. Розанов // Биофизика живой клетки. — 1994. — Т. 6. — С. 8—13.
24. Савушкина С. И. Влияние криоконсервации на подвижность сперматозоидов русского осетра (*Acipenser gueldenstadti* Br.) / С. И. Савушкина // Ресурсосберегательные технологии в аквакультуре, Адлер, 4–7 окт., 1999 г. : II Междунар. симпоз.: матер. — Краснодар, 1999. — С. 90.
25. Савушкина С. И. Выращивание рыбопосадочного материала, полученного с использованием криоконсервированной спермы / С. И. Савушкина // Холодноводная аквакультура: старт в XXI век, Санкт-Петербург, 8–13 сент. 2003 г. : Междунар. симпоз. : матер. — СПб., 2003. — С. 303—305.
26. Савушкина С. И. Методические аспекты биотехнологии криоконсервации половых продуктов пресноводных рыб / С. И. Савушкина // Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности : Междунар. науч.-практ. конф., посвят. 60-летию Московской рыбоводно-мелиоративной опытной станции и 25-летию её реорганизации в ГНУ ВНИИР, Москва, 11–13 апр. 2005 г. : матер.. — М., 2005. — Т. 2. — С. 217—227.
27. Смирнов И. В. Сохранение семени сельскохозяйственных животных посредством глубокого охлаждения / И. В. Смирнов // Советская зоотехния. — 1949. — № 4. — С. 93—96.
28. Філіпов В. Ю. Відтворення райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss* W.) з використанням кріоконсервованих статевих продуктів / В. Ю. Філіпов, А. І. Мрук, Л. П. Бучацький // Рибогосподарська наука України. — 2009. — № 4. — С. 82—84.
29. Application of sperm cryopreservation to hatchery and species conservation: A case of the Adriatic grayling (*Thymallus thymallus*) / A. Horvath, D. Jesensek, B. Csorbai [et al.] // Aquaculture. — 2012. — Vol. 358. — P. 213—215.
30. Blaxter J. H. S. Sperm storage and cross-fertilization of spring and autumn spawning herring / J. H. S. Blaxter // Nature (London). — 1953. — Vol. 172. — P. 1189—1190.



31. Chao N. H. Cryopreservation of finfish and shellfish gametes and embryos / N. H. Chao, I. C. Liao // *Aquaculture*. — 2001. — Vol. 197. — P. 161—189.
32. Cryopreservation and short-term storage of sturgeon sperm, a review / R. Billard, J. Cosson, S. B. Noveiri, M. Pourkazemi // *Aquaculture*. — 2004. — Vol. 236 (1—4). — P. 1—9.
33. Cryopreservation of common carp, *Cyprinus carpio* L. / I. Babiak, J. Glogowski, E. Brzuska [et al.] // *Aquaculture Research*. — 1997. — Vol. 28. — P. 567—571.
34. Cryopreservation of sperm of the endangered razorback sucker / T. R. Tiersch, C. R. Figiel, W. R. Wayman [et al.] // *T. A. Fish. Soc.* — 1998. — Vol. 127. — P. 95—104.
35. Detrimental effects of cryopreservation of loach (*Misgurnus fossilis*) sperm on subsequent embryo development are reversed by incubating fertilised eggs in caffeine / J. Kopeika, E. Kopeika, T. Zhang [et al.] // *Cryobiology*. — 2003. — Vol. 46. — P. 43—52.
36. Motility of and phospholipid content in cryopreserved spermatozoa of three sturgeon species / S. I. Drokin, E. F. Kopeika // *Sturgeon Quarterly*. Oct. — 1996. — Vol. 4. — P. 8—10.
37. Evaluation of DNA damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cryopreserved sperm / E. Cabrita, V. Robles, L. Rebordinos [et al.] // *Cryobiology*. — 2005. — Vol. 50. — P. 144—153.
38. Fertilization rate of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) milt cryopreserved with methanol / J. Glogowski, R. Kolman, M. Szczepkowski [et al.] // *Aquaculture*. — 2002. — Vol. 211. — P. 367—373.
39. Characteristics and freezing tolerance of brown trout spermatozoa according to rearing water salinity / C. Labbe, G. Maisse // *Aquaculture*. — 2001. — Vol. 201. — P. 287—299.
40. Sturgeon sperm cryopreservation methodology / O. Linhart, B. Dzyuba, S. Boryspolets [et al.] // *Cryopreservation of sturgeon sperm : International Workshop, Wuhan, 28 October 2009 : proceed.* — China, 2009. — P. 1—11.

## REFERENCES

1. Veprincev, B. N., & Rott, N. N. (1985). *Problema sohraneniya genofonda*. Moskva : Znanie.
2. Veprincev, B. N., & Piliev, S. A. (2002). Sohranit' genofond ryb i vodnyh bespozvonochnyh. *Izbrannyye trudy Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta presnovodnogo rybnogo hozjajstva*. Dmitrov : Sever Podmoskov'ya, 1 (I-II), 366-369.
3. Veprincev, B. N., & Rott, N. N. (1991) Strategiya sohraneniya zhivotnogo i rastitel'nogo mira Zemli. *Konservaciya geneticheskikh resursov*. Pushhino, 5-18.
4. Bezusyi, O. L., Cherepnin, V. O., & Bekh, V. V. et al. (2010). Vyvchennia vplyvu kriokonservuvannia spermy na rozvytok molodi ukrainskykh porid koropa. *Rybohospodarska nauka Ukrainy*, 4, 95-100.
5. Vilenchik, M. M. (1983). Skol'ko let mozhno hranit' zarodyshevye kletki v kriokonservirovannom sostojanii bez sushhestvennogo povrezhdeniia ih genoma. *Konservaciya geneticheskikh resursov*. Pushhino, 1-21.
6. Gahova, Je. N., & Chekurova, N. R. (1994). Kriokonservaciya gamet i lichinok vodnyh bespozvonochnyh. *Biofizika zhivoj kletki : Sb. nauch. tr. IBK RAN*, 6, 104-110.



7. Horbunov, L. V., Hrynzhevskiy, M. V., & Salina A. S. (2005). Kriokonservatsiia statevykh klityn ryb na osnovi vykorystannia shyrokooho diapazonu shvydkosti teploobminu. *Problemy vosproizvodstva aborigennykh vidov ryb : Mezhdunar. nauch.-prakt. konf.* Kiev, 65-72.
8. Egorov, M. A. (2005). O koncepcii dejatel'nosti Kaspijskogo kriobanka. *VIII Mezhdunarodnaja nauchnaja konferencija «Jekologo-biologicheskie problemy Kaspijskogo morja»*. Astrahan' : Astrahanskij universitet, 74-75.
9. Vojnova, N. V., Mirzojan, A. V., Ivanov, G. Ju., & Fedchenko, V. M. (2003). Ispol'zovanie novyh tehnologij v akvakul'ture. *Holodnovodnaja akvakul'tura: start v XXI vek : Mezhdunarodnyj simpozium*. Sankt-Peterburg, 78-80.
10. Karanova, M. V., Pronina, N. D., & Cvetkova, L. I. (2002). Vlijanie antifriznih glikoproteinov na zhiznesposobnost' spermiev ryb v uslovijah dlitel'nogo hranenija pri temperature 40°C. *Izvestija AN, 1*, 88-92.
11. Kopejka, E. F., Drokin, S. I., & Cherepanov, V. V. (2011). Kachestvo kriokonservirovannoj spermy sazanov posle 25 let hranenija. *Suchasni problemy teoretychnoi ikhtiologii : IV Mizhnar. ikhtiologichn. nauk-praktych. konf.* Odesa, 136-138.
12. Anan'ev, V. I., Gahova, Je. N., & Katasonov, V. Ja. (2002). Koncepcija sohranenija i ustojchivogo ispol'zovanija bioraznoobrazija s primeneniem metodov kriokonservacii genomov gidrobiontov. *Izbrannye trudy Vserossijskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta presnovodnogo rybnogo hozjajstva, 1 (I-II)*, 385-399.
13. Kopejka, E. F. (1992). Zamorazhivanie spermy osetrovych Azovo-Chernomorskogo bassejna. *Kriokonservacija reproduktivnykh kletok ryb i jembrionov*, 66-72.
14. Kopejka, E. F., & Novikov, A. N. (1983). Kriokonservirovanie spermy ryb. *Kriokonservirovanie kletochnykh suspenzij*. Kiev : Naukova dumka, 204-215.
15. Kopejka, E. F., & Anan'ev, V. I. (1994). Sostojanie i nekotorye perspektivy rabot po kriokonservacii polovykh kletok ryb. *Rybnoe hozjajstvo, 1*, 8-14.
16. Gahova, Je.N., Uteshev, V. K., Shishova, N. V., & Jashina, S. G. (2006). Kriobank genomov zhivotnyh i rastenij v institute biofiziki kletki RAN. *Biofizika zhivoj kletki : sb. nauch. tr. IBK RAN, 8*, 14-38.
17. Gorbunova, L. V., Grinzhevskogo, N. V., & Morozova, I. A. (2002). *Kriokonservacija polovykh kletok i jembrionov zhivotnyh na osnove priminenija sverhvysokih skorostej zamorazhivanija-ottaivanija*. Kiev : HBTC UAAN, IRH UAAN.
18. Ponomareva, E. N., Tihomirov, A. M., Bogatyreva, M. M., & Krasil'nikova A. A. (2012). Kriokonservacija reproduktivnogo materialy ryb: razrabotki Juzhnogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk. *Sovremennye rybohozjajstvennye i jekologicheskie problemy Azovo-Chernomorskogo regiona : VII Mezhdunarodnaja konferencija*. Kerch', JugNIRO, 2, 55-58.
19. Cvetkova, L. I., Bogeruk, A. K., & Dokina, O. B. (2003). Kriokonservacija spermy lososevyh ryb. *Holodnovodnaja akvakul'tura: start v XXI vek : Mezhdunarodnyj simpozium : mater.* Sankt-Peterburg, 112.
20. Cucaeva, A. A. (Ed.) (1983). *Kriokonservirovanie kletochnykh suspenzij*. Kiev : Naukova dumka.
21. Piliev, S. A. (1989). Primenenie kriokonservacii v rybovodstve. *Selekcija ryb*. Moskva : Agropromizdat, 100-105.



22. Rekrut, S. V., Pavlishchenko, V. M., Zhuravel, M. P. (2005). Do pytannia pro stvorennia kriobanku hamet ryb. *Aktualni problemy akvakultury ta ratsionalnoho vykorystannia vodnykh bioresursiv : Mizhnarodna naukovo-praktychna konferentsiia, Kyiv, 26-30 veresnia 2005 r. : materialy*. Kyiv, 217.
23. Rozanov, S. I. (1994). Mesto geneticheskikh kriobankov v reshenii problemy sohraneniya bioraznoobraziya. *Biofizika zhivoj kletki*, 6, 8-13.
24. Savushkina, S. I. (1999). Vliianie kriokonservatsii na podvizhnost' spermatozoidov russkogo osetra (*Acipenser gueldenstadti* Br.). *Resursosberegatel'nye tehnologii v akvakul'ture : 2-j Mezhdunarodnyj simpozium*. Krasnodar, 90.
25. Savushkina, S. I. (2003). Vyrashhivanie ryboposadochnogo materiala, poluchennogo s ispol'zovaniem kriokonservirovannoj spermy. *Holodnovodnaja akvakul'tura: start v XXI vek : Mezhdunarodnyj simpozium*". Sankt-Peterburg, 303-305.
26. Savushkina, S. I. (2005). Metodicheskie aspekty biotehnologii kriokonservatsii polovyyh produktov presnovodnyh ryb. *Akvakul'tura i integrirovannye tehnologii: problemy i vozmozhnosti : Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvjashhennaja 60-letiju Moskovskoj rybovodno-meliorativnoj opytnoj stancii i 25-letiju ejo reorganizatsii v GNU VNIIR*. Moskva, 2, 217-227.
27. Smirnov, I. V. (1949). Sohranenie semeni sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh posredstvom glubokogo ohlazhdenija. *Sovetskaja zootehnija*, 4, 93-96.
28. Filipov, V. Iu., Mruk, A. I., & Buchatskyi, L. P. (2009). Vidtvorennia raiduzhnoi foreli (*Oncorhynchus mykiss* W.) z vykorystanniam kriokonservovanykh statevykh produktiv. *Rybohospodarska nauka Ukrainy*, 4, 82-84.
29. Horvath, A., Jesensek, D., & Csorbai, B. (2012). Application of sperm cryopreservation to hatchery and species conservation: A case of the Adriatic grayling (*Thymallus thymallus*). *Aquaculture*, 358, 213-215.
30. Blaxter, J. H. S. (1953). Sperm storage and cross-fertilization of spring and autumn spawning herring. *Nature*, 172, 1189-1190.
31. Chao, N. H., & Liao, I. C. (2001). Cryopreservation of finfish and shellfish gametes end embryos. *Aquaculture*, 197, 161-189.
32. Billard, R., Cosson, J., Noveiri, S. B., & Pourkazemi, M. (2004). Cryopreservation and short-term storage of sturgeon sperm, a review. *Aquaculture*, 236 (1-4), 1-9.
33. Babiak, I., Glogowski, J., & Brzuska, E. (1997). Cryopreservation of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Research*, 28, 567-571.
34. Tiersch, T. R., Figiel, C. R., & Wayman, W. R. (1998). Cryopreservation of sperm of the endangered razorback sucker. *T. A. Fish. Soc.*, 127, 95-104.
35. Kopeika, J., Kopeika, E., & Zhang T. (2003). Detrimental effects of cryopreservation of loach (*Misgurnus fossilis*) sperm on subsequent embryo development are reversed by incubating fertilised eggs in caffeine. *Cryobiology*, 46, 43-52.
36. Drokin, S. I., & Kopeika, E. F. (1996). Motility of and phospholipid content in cryoreserved spermatozoa of three sturgeon species. *Sturgeon Quarterly. Oct.*, 4, 8-10.
37. Cabrita, E., Robles, V., & Rebordinos, L. (2005). Evaluation of DNA damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cryopreserved sperm. *Cryobiology*, 50, 144-153.



38. Glogowski, J., Kolman, R., & Szczepkowski, M. (2002). Fertilization rate of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) milt cryopreserved with methanol. *Aquaculture*, 211, 367-373.
39. Labbe, C., & Maisse, G. (2001). Characteristics and freezing tolerance of brown trout spermatozoa according to rearing water salinity. *Aquaculture*, 201, 287-299.
40. Linhart, O., Dzyuba, B., Boryspolets, S., & Ping, Li. (2009). Sturgeon sperm cryopreservation methodology. *Cryopreservation of sturgeon sperm : International Workshop : proceedings*. China, 1-11.

### КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ ПОЛОВЫХ ПРОДУКТОВ — ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ОСЕТРОВЫХ ВИДОВ РЫБ (ОБЗОР)

**И. С. Кононенко**, [kononenkois@mail.ru](mailto:kononenkois@mail.ru), Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев

**В. В. Бех**, [bekh@if.org.ua](mailto:bekh@if.org.ua), Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

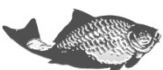
**Цель.** В последние годы широкое использование получило криоконсервирование половых продуктов как один из доступных и, в некоторых случаях, единственно возможных способов сохранения и поддержания численности исчезающих видов рыб, в том числе и осетровых. На данный момент метод криоконсервирования представлен разнообразными методиками и способами с использованием индивидуальных и видовых подходов. Многочисленные публикации по вопросу криоконсервирования спермы рыб преимущественно содержат нестабильные результаты и сомнительные данные. Таким образом, анализ существующей информации по общим принципам и методам криоконсервирования спермы рыб является важным вопросом. В частности, обобщение существующей информации разрешит более эффективно и рационально планировать постановку эксперимента и получать желаемые результаты с повышенной достоверностью.

**Результаты.** В работе рассмотрены основные принципы широко используемых методов криоконсервирования спермы рыб, анализ основных факторов влияния на результаты замораживания/размораживания, а также обзор результатов, полученных при использовании разнообразных способов и методов криоконсервирования. Кроме того, в статье освещается вопрос важности создания и полноценного функционирования криобанков спермы рыб.

**Научная новизна.** Данная работа является обобщением существующей информации по вопросу низкотемпературного криоконсервирования спермы рыб. Информация представлена в форме последовательного изложения результатов, полученных на каждом этапе замораживания/размораживания при использовании разных методик, а также при влиянии различных факторов. Кроме того, дается краткое описание достижений в области криоконсервирования и основных принципов создания криобанков спермы рыб.

**Практическое значение.** Представленный обзор классических и современных литературных данных по вопросу криоконсервирования, которые могут быть использованы при планировании, модернизации и проведении опытов по замораживанию/размораживанию спермы рыб.

**Ключевые слова:** криоконсервирование, замораживание/размораживание, криопротекторы, жидкий азот, низкотемпературное хранение, методы криоконсервирования, сперма рыб, криобанк спермы, коллекция образцов спермы.





**CRYOPRESERVATION OF REPRODUCTIVE PRODUCTS  
AS AN EFFECTIVE METHOD FOR PRESERVING THE BIODIVERSITY  
OF STURGEON FISH SPECIES (REVIEW)**

**I. Kononenko**, [kononenkois@mail.ru](mailto:kononenkois@mail.ru), National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

**V. Bekh**, [bekh@if.org.ua](mailto:bekh@if.org.ua), Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

**Purpose.** In recent years, cryopreservation of reproductive products has widely been used as one of the accessible and in some cases the only ways of preserving and supporting the number of endangered fish species including sturgeon fish species. Currently, the method of cryopreservation is represented by various techniques and ways using individual and species approaches. Numerous publications on the issue of fish sperm cryopreservation mostly contain inconsistent results and ambiguous data. Thus, the analysis of the existing information about principles and methods of fish sperm cryopreservation is an important issue for further studies. Moreover, summarizing the existing information will enable us to plan the experiment more efficiently and reasonably and to get the desired outcomes with higher reliability.

**Findings.** The study presents main principles of widely used methods of fish sperm cryopreservation, the analysis of main factors of influence on outcomes of freezing or unfreezing as well as the analysis of results received when using various ways and methods of cryopreservation. Besides, the paper shows the importance of forming and full functioning of fish sperm cryobanks.

**Originality.** The paper summarizes the existing information on the issue of fish sperm low temperature cryopreservation. The information is given in the form of successive presentation of the research outcomes received at each point of freezing or unfreezing when using different techniques as well as results of different factors influence on it. Moreover, a review of achievements in the field of cryopreservation and main principles of forming fish sperm cryobanks are given.

**Practical value.** The presented review of traditional and modern literature data in the issue of cryopreservation can be used when planning, redesigning and experimenting fish sperm freezing or unfreezing.

**Keywords:** cryopreservation, freezing or unfreezing, cryoprotectors, liquid nitrogen, low temperature preservation, methods of cryopreservation, fish sperm, sperm cryobank, a collection of sperm examples.

