

УДК 639.371.2

# КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СПЕРМЫ ОСЕТРОВЫХ РЫБ: ТЕКУЩЕЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

**Д.А. Исаев**, канд. биол. наук, ФГБНУ «Всероссийский НИИ ирригационного рыбоводства ФАНО»,  
Россия, Московская область, Ногинский р-н, пос. им. Воровского,  
**e-mail:** isaev@hotmail.ru

**Р.А. Шафеи**, канд. биол. наук, МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва

**Аннотация.** В работе представлен краткий обзор подходов и методов криоконсервации спермы некоторых видов осетровых рыб. Несмотря на длительную историю экспериментальных исследований, большинство этих методов все еще недостаточно эффективны для рутинного применения в осетроводстве. Целью нашего обзора было выявить наиболее эффективные существующие методики криоконсервации спермы осетровых рыб, а также отметить новые тенденции, позволяющие улучшить или даже заменить «классические» подходы.

**Ключевые слова:** осетровые рыбы, криоконсервация, сперма, искусственное оплодотворение.

## SPERM CRYOPRESERVATION IN STURGEON: CURRENT STATE AND TRENDS

**D.A. Isaev, R.A. Shafei**

**Summary.** This work presents a brief overview of methods and approaches to cryopreservation of sperm in some sturgeon species. Despite a long history of experimental studies, most of these methods are still not effective enough to be routinely used in sturgeon farming. The goal of our review was to reveal the most effective conventional techniques of sturgeon sperm cryopreservation and point out new trends suggesting improvement or even replacement of these 'classical' techniques.

**Keywords:** sturgeon, cryopreservation, sperm, artificial fertilization.

Искусственное оплодотворение в осетроводстве подразумевает определенные стандарты качества используемой спермы, обеспечивающие достаточный производственный выход [4]. Наиболее популярна оценка качества спермы по пятибалльной шкале Персова, учитывающей цветность (приблизительная оценка концентрации), консистенцию и подвижность [7]. Вместе с тем, важнейшими показателями качества спермы являются

способность к активации, дающая необходимую концентрацию подвижных сперматозоидов в момент оплодотворения — «фертильный титр», а также время сохранения сперматозоидами подвижности. Эти показатели определяются в дополнительных лабораторных исследованиях и дают более адекватную оценку фертильного потенциала спермы [2]. Тем не менее, руководства по осетроводству не рекомендуют использовать спер-

му с концентрацией менее 1 млрд/мл и подвижностью после активации менее 75% [3, 4, 11, 28]. Показатели качества дефростированной спермы заведомо снижены по сравнению со свежей, поэтому технологии криоконсервации спермы не используются рутинно в производстве и по-прежнему остаются главным образом экспериментальными.

В нашем обзоре рассмотрены технологии криоконсервации спермы осетровых рыб, включая новые, описанные в литературе последних 5 лет (2010–2015 гг.), с целью выявить наиболее эффективные на сегодняшний день традиционные, а также новые перспективные методики. Более ранние работы приведены в качестве первоисточников для обоснования выбора тех или иных подходов. Мы также не рассматриваем применение различных добавок (антибиотиков, антиоксидантов, витаминов и пр.) и технологических ухищрений (например, электростимуляции [10]), повышающих выживаемость сперматозоидов при использовании базовых методик.

### **КРИОЗАЩИТНАЯ СРЕДА**

Криоконсервация биологических объектов предполагает определенный состав консервирующего раствора и режимы замораживания и размораживания. В отечественных работах по криоконсервации спермы рыб консервирующий раствор обычно называют *криозащитной средой*. Криозащитная среда представляет собой раствор *криопротектора* в *разбавителе*. Готовую криозащитную среду перед замораживанием смешивают со спермой в определенном соотношении, обычно 1:1. Под *криопротектором* подразумевают проникающие через клеточную мембрану криопротекторы, такие как глицерин, этиленгликоль, диметилсульфоксид

(ДМСО), метанол, диметилацетамид и др., в то время как непроникающие криопротекторы (чаще всего это сахароза, в некоторых случаях — глюкоза [27] и маннитол [9]) входят в состав разбавителя. Horvath и соавт. [25] указывают, что разбавитель должен быть изоосмотическим по отношению к семенной плазме. В настоящее время наиболее часто используют разбавитель Цветковой (таблица) и реже — среду Штайна.

### **СРЕДА ШТАЙНА**

Не всегда возможно установить, что авторы имеют в виду под «средой Штайна». Черепанов и соавт. [12] приводят следующие составы для двух вариантов среды Штайна.

Среда Штайна 1: 130 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 1,5 мМ CaCl<sub>2</sub>, 20 мМ NaHCO<sub>3</sub>, 3,4 мМ NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,7 мМ MgSO<sub>4</sub>, 5 мМ глюкозы, 66 мМ глицерина.

Среда Штайна 2: 130 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 20 мМ NaHCO<sub>3</sub>, 5 мМ глюкозы.

Оба состава содержат 1,4 М ДМСО и 12,5% яичного желтка.

В работе 1978 г. [33] со ссылкой на более раннюю работу Штайна [32] действительно приведены два варианта среды, содержащей 10% ДМСО:

1) разбавитель 1: 750 мг NaCl, 200 мг NaHCO<sub>3</sub>, 53 мг NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 23 мг MgSO<sub>4</sub> × 7 H<sub>2</sub>O, 38 мг KCl, 46 мг CaCl<sub>2</sub> × 2H<sub>2</sub>O, 100 мг глюкозы, 500 мг глицина, 100 мл H<sub>2</sub>O, 20 мл яичного желтка;

2) разбавитель 2: 750 мг NaCl, 200 мг NaHCO<sub>3</sub>, 38 мг KCl, 100 мг глюкозы, 100 мл H<sub>2</sub>O, 20 мл яичного желтка.

Особое внимание следует обратить на то, что в оригинальный состав разбавителя 1 Штайна входит глицин, а не глицерин!

В 1991 г. одна из работ Штайна была опубликована в русском переводе [15]. В этой работе указан только один состав:

750 мг NaCl, 200 мг NaHCO<sub>3</sub>, 40 мг KCl, 100 мг глюкозы, 100 мл H<sub>2</sub>O, 20 мл яичного желтка. Ссылки на данную работу в русскоязычных публикациях позволяют думать, что именно данный состав следует считать средой Штайна.

### РАЗБАВИТЕЛЬ ЦВЕТКОВОЙ

Horvath и соавт. [25] указывают, что первые положительные результаты по криоконсервации спермы осетровых рыб были получены Цветковой и соавт. [34]. В этой работе приведен следующий состав разбавителя: 23,4 мМ сахарозы, 118 мМ ТРИС, pH 8,0. Glogowski и соавт. [24], тестируя различные криозащитные среды, приводят несколько иной состав разбавителя на основе ТРИС-сахарозы: 30 мМ ТРИС, 23,4 мМ сахарозы, 0,25 мМ KCl, pH 8,0. Horvath и соавт. реферируют этот состав как «модифицированный разбавитель Цветковой» — МТ [25]. Этот состав приводится в работах Исследовательского центра аквакультуры и биоразнообразия гидроценозов Университета Южной Богемии (Чехия), а также с возможными незначительными отличиями в работах других авторов (таблица).

### БЕССОЛЕВЫЕ РАЗБАВИТЕЛИ

Judycka и соавт. [27] использовали образцы спермы 9 самцов сибирского осетра для криоконсервации в оригинальном консерванте GM, состоящем только из глюкозы и метанола в водном растворе. Наилучшие результаты были достигнуты при концентрации глюкозы 0,1 М и метанола 15% и эквilibрации в GM в течение 30 мин перед замораживанием. Замораживание проводили в соломинах 250 мкл в парах азота (3 см над поверхностью) в течение 5 мин с последующим погружением в жидкий азот. Размораживали на водяной бане +40 °С в течение 5 сек. После размораживания

активировались до 60% сперматозоидов; частота оплодотворения была около 30%, а выклева свыше 30%.

Aramli и соавт. [18] показали, что раствор GM с концентрацией глюкозы 0,2 М и 10% метанола эффективен для криоконсервации спермы белуги. Сперму разбавляли 1:1, таким образом, конечная концентрация метанола составляла 5%. Замораживание и дефростацию проводили аналогично [27]. После дефростации активировались ~ 45% (в тексте — 50%) сперматозоидов, а частота фертилизации (определённая авторами как частота выклева) достигала 50%. Использование разбавителя МТ дало более низкие результаты (таблица) [18].

### КРИОПРОТЕКТОРЫ

Boryshpolets и соавт. [21] приводят данные об использовании в качестве криопротекторов ДМСО, диметилацетамида, этиленгликоля и метанола в исходных (до разбавления спермы) концентрациях 5% и 10% в сочетании с разбавителем, сходным по составу с МТ (таблица). Наилучшие результаты были достигнуты при использовании 10% метанола. Авторы делают вывод о предпочтительности использования метанола перед ДМСО, так как последний значительно снижает частоту оплодотворения, а также о непригодности этиленгликоля в качестве криопротектора.

Shaliutina-Kolešová и соавт. также установили, что наиболее подходящим криопротектором для спермы, по крайней мере, стерляди является метанол, обеспечивая наилучшую устойчивость к оксидативному стрессу; в то же время авторы продемонстрировали непригодность в качестве криопротектора этиленгликоля [31].

Пономарева и соавт. [8], изучая пероксидное окисление липидов в мем-

бранах митохондрий сперматозоидов, сравнивали результаты криоконсервации спермы русского осетра в среде Штайна с ДМСО и в разработанной авторами «криосреде № 3» (NaCl, KCl, NaHCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>, маннитол, сахараза, 10% яичного желтка, 10% ДМСО). Авторы продемонстрировали высокую выживаемость после дефростации сперматозоидов, замороженных в «криосреде № 3», по сравнению со средой Штайна: 60% и 10% соответственно. В работе, однако, не указано количество исследованных образцов, проведенных измерений и, соответственно, показателей вариации полученных значений.

Sadeghi и соавт. [29, 30] также не проводили исследования оплодотворяющей способности спермы стерляди и белуги при использовании в качестве криопротектора 10% ДМСО, несмотря на относительно хорошие результаты по восстановлению подвижности.

Земков и Акимочкина [5] сообщили о разработанной ими среде для криоконсервации спермы русского осетра, содержащей ДМСО, глицерин и гепарин. К 0,5 мл спермы русского осетра добавляли 0,05 мл глицерина, 0,05 мл ДМСО и 0,04 мл гепарина (исходная концентрация гепарина не указана). Такой состав, по данным авторов, обеспечивал хорошую сохранность характерной морфологии сперматозоидов по сравнению со средой Штайна, а также средами с различным содержанием сахаразы и маннитола. Несмотря на это, авторы указывают, что поступательное движение сперматозоидов после размораживания сохранялось лишь в отдельных случаях и составляло около 30%; колебательные движения наблюдались во всех случаях. Исследование оплодотворяющей способности спермы не проводилось.

В работах по криоконсервации спермы осетровых рыб Южного научного центра РАН и Астраханского государственного технического университета в качестве криопротектора часто указывается ДМСО [1, 8, 9, 13]. Сообщается о высокой эффективности криоконсервации, по крайней мере, для спермы белуги: восстанавливают подвижность ~ 90% сперматозоидов, а частота оплодотворения составляет ~ 70% [9].

К сожалению, во многих работах, где в качестве криопротектора используется ДМСО, не приводятся данные о частоте оплодотворения и выхода личинок, а в некоторых работах такие исследования не проводились.

### **РЕЖИМЫ ЗАМОРАЖИВАНИЯ И ДЕФРОСТАЦИИ**

Наиболее простым и эффективным является следующий режим заморозки: сперму с криозащитной средой набирают в соломины (пайеты) объемом от 0,25 мл либо помещают в криовials объемом до 5 мл, замораживают в парах жидкого азота, в 3 см над поверхностью, в течение некоторого времени (в зависимости от объема, обычно, до 10 мин), затем помещают непосредственно в жидкий азот и переносят в хранилище [13, 23, 27, 29]. Размораживание проводят быстро, в течение нескольких секунд на водяной бане при +40 °С. Данный способ является достаточно результативным, однако не обеспечивает необходимых объемов дефростированной спермы для использования в товарном рыбоводстве и требует дальнейшей разработки.

Скорость замораживания имеет большое значение, и контролируемые режимы снижения температуры могут быть предпочтительны по сравнению с упомянутым выше подходом. Так, ис-

пользуя программируемый замораживатель для криоконсервации спермы персидского осетра (*A. persicus*) в криозащитной среде МТ + 10% метанол, Aramli и соавт. добились наилучших результатов при максимальной скорости замораживания — 40 °С/мин [20]. Красильников и Тихомирова испытали альтернативный способ замораживания спермы русского и сибирского осетров в тонких пленках на сетке, что позволяет добиться сверхвысоких значений скорости охлаждения [6], а также, возможно, увеличить объемы замораживаемого материала. К сожалению, авторы приводят данные лишь о «продолжительности жизни» сперматозоидов и не приводят другие показатели качества дефростированной спермы.

Не меньшее значение имеет режим размораживания и последующее обращение с дефростированной спермой. Aramli и Nazari проводили криоконсервацию спермы 8 самцов персидского осетра (*A. persicus*) из природной популяции [17]. Сперму разбавляли 1:1 криозащитным раствором МТ + 10% метанол и замораживали в соломинах 0,5 мл в течение 10 мин над парами жидкого азота с последующим погружением в него. Размораживание было быстрым, 5 сек при +40 °С. Авторы указывают, что показатели спермы непосредственно после размораживания не отличались от таковых свежей спермы. Хранение дефростированной неактивированной спермы после размораживания при +4 °С в течение 30 мин не сказывалось на ее показателях, которые затем прогрессивно снижались. При использовании спермы непосредственно после размораживания способность к активации, частота фертилизации и выклева были наиболее высокими (таблица). Такие же высокие результаты были по-

лучены Aramli и соавт. при использовании того же подхода для белуги [19] (таблица).

### ВИТРИФИКАЦИЯ

В отличие от традиционной криоконсервации, витрификация исключает фазовый переход воды (и других веществ) в кристаллическое состояние. Вместо этого жидкие субстанции переходят в аморфное, стекловидное состояние (лат. *vitrum* — стекло), что является значительно менее травматичным для биологических объектов. Витрификация обеспечивается сверхбыстрым охлаждением объекта (непосредственным погружением в жидкий азот) и подбором составов криозащитных сред, создающих эффект пластификации в основном за счет особого характера связывания воды как вне, так и внутри объекта (клетки). Витрификация является наиболее технологичным и перспективным способом криоконсервации, но требует тщательной разработки криозащитных составов и протоколов с учетом особенностей объекта, что препятствует широкому распространению этого подхода.

На сегодняшний день известна только одна публикация Abed-Elmdoust и соавт. [16], в которой описан опыт витрификации спермы персидского осетра (*A. persicus*). Примечательно, что в данной работе был применен естественный криопротектор — белок-антифриз III (AFP III) арктических рыб семейства бельдюговых (*Zoarcidae*). Сперма была разбавлена 1:1 буфером ТРИС-НСI (100 мМ, рН 8,0), содержащим AFP III в концентрациях 5, 10 и 15 мкМ. Полученную суспензию капали непосредственно в жидкий азот с использованием специального приспособления («дроппера»), диаметр капель ~ 5 мм. Наилучшие результаты были получены при концентрации AFP III 10 мкМ:

Таблица

Эффективность криоконсервации спермы осетровых рыб с использованием различных криозащитных сред

Вид	Разбавитель	Крипротектор	Подвижность*	Частота оплодотворения	Частота выклева	Авторы
<i>A. stellatus</i>	MT	ДМСО 10%	~ 15%	-	-	Sadeghi et al., 2013 [29]
	MT	Метанол 10%	~ 50–60%	~ 40–50%	~ 40–50%	Dzyuba et al., 2014 [23]
	MT	Метанол 10%	5–67%	13–76%	до ~ 70%	Dzyuba et al., 2012 [22]
<i>A. ruthenus</i>	1 mM KCl, 25 mM ТРИС-НСl, рН 8,5, сахараза 30 mM	Метанол 10%	46 ± 19%	~ 35%	32 ± 17%	Boryshpolets et al., 2011 [21]
		ДМСО 10%	45 ± 7%	< 5%	0%	
		Диметилацетамид 10%	47 ± 18%	~10%	9 ± 5%	
<i>A. gueldenstaedtii</i>	Среда Штайна	—	25–30%	-	-	Чилинов и др., 2010 [13]
	ТРИС-НСl	ДМСО	10–15%	-	-	
	ТРИС-НСl	Метанол	15–20%	-	-	
<i>A. baerii</i>	-	Метанол	20–30%	92–95%	30,6%; 43,5%	Шишанова и др., 2012 [14]
	MT	Этиленгликоль 10%	65 ± 5%	-	-	Huang et al., 2014 [26]
	MT	Метанол 10%	~ 40%	до 30%	-	Judicka et al., 2015 [27]
<i>A. persicus</i>	GM, глюкоза 0,1 M	Метанол 15%	~ 60%	до 30%	-	Aramli, Nazari 2015 [17]
	MT	Метанол 10%	> 80%	~ 80%	~ 70%	
	MT	ДМСО 10%	23,41 ± 1,60%	-	-	
<i>Huso huso</i>	MT	Метанол 10%	~ 25%	-	~ 40%	Aramli et al., 2015 [18]
	GM, глюкоза 0,2 M	Метанол 10%	~ 45%	-	~ 50%	
	MT	Метанол 10%	~ 80%	~ 85%	> 75%	

\* Подвижность после дефростации и активации.

свыше 16% сперматозоидов сохранили способность к активации.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время наиболее популярными и эффективными являются криозащитные среды на основе модифицированного разбавителя Цветковой — МТ. В качестве криопротектора лучшие результаты продемонстрированы для метанола в конечной концентрации 5–7,5% (10–15% в криозащитной среде для последующего разбавления спермы 1:1). Замораживание выполняют в соломинах (пайетах) 0,25, 0,5 или 1,2 мл или в криовиалах 5 мл, в парах азота, в течение нескольких минут с последующим погружением в жидкий азот и переносом в криохранилище. Размораживание быстрое, в воде при температуре +40 °С в

течение 13–20 сек для пайет или 40 сек для криовиалов.

Режимы замораживания, дефростации и последующего обращения с дефростированной спермой имеют огромное значение. Очевидно, что время от размораживания до оплодотворения должно быть минимальным.

Заслуживает внимания применение бессолевого криозащитного средства простого состава — GM, представляющих собой водный раствор 0,1–0,2 М глюкозы и 10–15% метанола (возможны вариации в зависимости от видовых особенностей). Эффективность криоконсервации спермы в средах GM сходна с традиционными методами.

Новым перспективным подходом в криоконсервации спермы осетровых рыб может стать витрификация.

### Литература

3. Богатырева М.М. Оптимизация методов криоконсервации спермы для сохранения генофонда осетровых рыб: дисс... канд. биол. наук. — Астрахань, 2010. — 126 с.
4. Бубунец Э.В. и др. Качество спермы анадромных осетровых в условиях культивирования // Рыбное хозяйство. — 2015. — № 5. — С. 61–67.
5. Васильева Л.М. и др. Технологии и нормативы по товарному осетроводству в VI рыбодобывочной зоне / под ред. Н.В. Судаковой. — М.: Изд-во ВНИРО, 2006. — 100 с.
6. Васильева Л.М. и др. Биотехнологические нормативы по товарному осетроводству. — Астрахань: ИД «Астраханский университет», 2010. — 78с.
7. Земков Г.В., Акимочкина Т.И. Цитоморфологические и функциональные изменения спермиев у русского осетра *Acipenser guldenshtadti* после криоконсервации // Цитология. — 2009. — Т. 51, № 11. — С. 945–952.
8. Красильникова А.А., Тихомиров А.М. Альтернативные способы подготовки сперматозоидов рыб к замораживанию при сверхвысоких значениях скорости охлаждения // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. — 2014. — № 2. — С. 72–78.
9. Персов Г.М. Дозирование спермиев как способ управления оплодотворением яйцеклеток осетровых: доклады АН СССР. — Т. 90. — М., 1953 — С. 1183–1185.
10. Пономарева Е.Н. и др. Оптимизация процесса криоконсервации спермы осетровых рыб при использовании различных сред // Изв. Самарского научного центра Российской академии наук. — 2009. — Т. 11, № 1 (2). — С. 132–134.
11. Пономарева Е.Н. и др. Криоконсервация репродуктивного материала рыб: разработки Южного научного центра Российской академии наук // Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона: материалы VII Международной конференции (Керчь, 20–23 июня 2012 г.). — Керчь: ЮгНИРО, 2012. — Т. 2. — С. 55–58.

12. Тихомиров А.М., Пономарева Е.Н. Электростимуляция мембран спермиев русского осетра облегчает проникновение криопротекторов внутрь клеток // Криоконсервация как способ сохранения биологического разнообразия: биофизика живой клетки. Консервация генетических ресурсов: материалы конференции (Пущино, 28–30 октября 2008 г.). — Пущино, 2008. — Т. 9. — С. 129–130.
13. Чебанов М.С., Галич Е.В. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб / Технический доклад ФАО по рыбному хозяйству. — Анкара, 2013. — 370 с.
14. Черепанов В.В., Желтоножко С.В., Желтоножко В.В. Криоконсервация спермы реофильной нерки // Проблемы криобиологии. — 2000. — № 2. — С. 64–70.
15. Чипинов В.Г., Джаригазов Е.С., Болонина Н.В. Оценка качества спермы осетровых рыб различными методами и опыт ее низкотемпературной консервации // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. — 2010. — № 1. — С. 140–143.
16. Шишанова Е.И., Тренклер И.В., Мамонова А.С. Влияние криоконсервации спермы на выживаемость и генетический полиморфизм личинок русского осетра // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. — 2012. — № 2. — С. 105–111.
17. Штайн Г. Криоконсервация гамет рыб // Проблемы криобиологии. — 1991. — № 3. — С. 42–46.
18. Abed-Elmdoust A. et al. Novel droplet vitrification combined with fish antifreeze protein type III enhances cryoprotection of semen in wild endangered Persian sturgeon *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) // Aquaculture Research. — 2015. — V. 46. — P. 2392–2397.
19. Aramli M.S., Nazari R.M. Motility and fertility of cryopreserved semen in Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, stored for 30–60 min after thawing // Cryobiology. — 2014. — V. 69. — P. 500–502.
20. Aramli M.S. et al. Effectiveness of glucose-methanol extender for cryopreservation of *Huso huso* spermatozoa // Anim. Reprod. Sci. — 2015. — V. 162. — P. 37–42.
21. Aramli M.S., Nazari R.M., Gharibi M.R. Effect of post-thaw storage time on motility and fertility of cryopreserved beluga sturgeon (*Huso huso*) sperm // Reprod. Domest. Anim. — 2015a. — V. 50. — P. 349–352.
22. Aramli M.S. et al. Effect of freezing rate for cryopreservation of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) spermatozoa // Theriogenology. — 2016. — V. 85. — P. 734–739.
23. Boryshpolets S. et al. Cryopreservation of sterlet (*Acipenser ruthenus*) spermatozoa using different cryoprotectants // Journal of Applied Ichthyology. — 2011. — V. 27. — P. 1147–1149.
24. Dzyuba B. et al. Spermatozoa motility, cryoresistance, and fertilizing ability in sterlet *Acipenser ruthenus* during sequential stripping // Aquaculture, 2012. — V. 356–357. — P. 272–278.
25. Dzyuba B. et al. Motility and fertilization ability of sterlet *Acipenser ruthenus* testicular sperm after cryopreservation // Cryobiology. — 2014. — V. 69. — P. 339–341.
26. Glogowski J. et al. Fertilization rate of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) milt cryopreserved with methanol // Aquaculture. — 2002. — V. 211. — P. 367–373.
27. Horvath A., Chevre P., Urbanyi B. Sperm cryopreservation in sturgeon with a special focus on *A. sturio*: chap. 35 // In: Biology and conservation of the European sturgeon *Acipenser sturio* L. 1758: the reunion of the European and Atlantic sturgeons. Ed. by Williot P., Rochard E., Dese Berset N., Kirschbaum F., Gessner J. / Heidelberg, NLD: Springer, 2011. — P. 465–476.
28. Huang B.X.-R. et al. Effect of cryopreservation on the enzyme activity of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzeburg, 1833) semen // J. Appl. Ichthyol. — 2014. — V. 30. — P. 1585–1589.



29. Judycka S. et al. New extender for cryopreservation of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) semen // *Cryobiology*. — 2015. — Feb 25. pii: S0011-2240 (15) 00 033-4.
30. Manual on sturgeon reproduction / Coppen International bv, Helmont, The Netherlands, 2007. — Special Issue. — 40 p.
31. Sadeghi A. et al. Cryopreservation of stellate (*Acipenser stellatus*) sperm: Effect of different concentrations of DMSO and dilution dates on sperm mobility and motility duration after long-term storage // *Global Veterinaria*. — 2013. — V. 10. — P. 26-30.
32. Sadeghi A. et al. Cryopreservation of beluga (*Huso huso*) sperm: Effect of different concentrations of DMSO and dilution rates on sperm mobility and motility duration after short-term storage // *Global Veterinaria*, 2013a. — V. 10. — P. 46-50.
33. Shaliutina-Kolešová A. et al. The influence of cryoprotectants on sturgeon (*Acipenser ruthenus*) sperm quality, DNA integrity, antioxidant responses, and resistance to oxidative stress // *Anim. Reprod. Sci.* — 2015. — V. 159. — P. 66-76.
34. Stein H. Zur Gefrierkonservierung von Fischsperma // *Tierzuchter*, 1976. — B. 28. — S. 498.
35. Stein H., Bayrle H. Cryopreservation of the sperm of some freshwater teleosts // *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* — 1978. — V. 18, № 4. — P. 1073-1076.
36. Tsvetkova L.I. et al. Motility and fertilizing capacity of fresh and frozen-thawed spermatozoa in sturgeons *Acipenser baeri* and *A. ruthenus* // *J. Appl. Ichthyol.* — 1996. — V. 12. — P. 107-112.

**ОТ МОСКВЫ ДО САХАЛИНА**

*Входит в Перечень изданий ВАК.*

В нашей стране с ее огромной территорией, пригодной для сельского хозяйства, наличием квалифицированных специалистов в отрасли, огромным научным заделом ведения крупномасштабного животноводства в ближайшей перспективе абсолютно реально создание высокоэффективной, современной отрасли сельского хозяйства. Дело в том, что животноводство России в настоящее время переживает не лучшие времена, и приятно сознавать, что на рынке печатной продукции имеется издание, которое пропагандирует как последние достижения в области научных исследований, так и практические рекомендации для специ-

алистов различных отраслей животноводства.

Журнал «Главный зоотехник» популярен во всех регионах нашей огромной страны и является в своем роде уникальным изданием, в котором освещены практически все направления животноводства — от скотоводства до рыбоводства и звероводства. В то же время в нем рассматривается и широкий спектр вопросов, связанных с успешным ведением той или иной отрасли: состояние и перспективы развития племенной работы и воспроизводства стада, кормление и содержание животных, технологии производственных процессов, направленных на повышение продуктивности различных пород скота, свиней, овец и птицы.

**ЖУРНАЛ «ГЛАВНЫЙ ЗООТЕХНИК»**



Редакционная подписка в 1,5-2 раза дешевле, чем подписка на почте.

На правах рекламы

**ОБРАТИТЕ ВНИМАНИЕ!** Получить счет для оплаты подписки через редакцию можно, прислав заявку в произвольной форме на адрес: [podpiska@panor.ru](mailto:podpiska@panor.ru)  
 Подробнее о подписке — на сайте [www.panor.ru](http://www.panor.ru), тел. (495) 664-27-61

**ЖУРНАЛ «ГЛАВНЫЙ АГРОНОМ»**

**ЧТОБЫ ПОЛЕ БЫЛО УРОЖАЙНЫМ**



Редакционная подписка в 1,5-2 раза дешевле, чем подписка на почте.

Ценность журнала «Главный агроном» заключается в комплексном подходе к подбору публикаций. В одном номере журнала читатель может найти новые материалы по земледелию, технологиям и особенностям возделывания всего многообразия полевых культур — зерновых, зернобобовых, картофеля, кормовых, масличных и технических растений, а также овощных и плодовых культур.

Публикуемый в журнале материал отличается новизной, актуальностью и производственной направленностью. Во многих статьях раскрываются неис-

пользованные резервы производства и секреты новых технологий, а также перспективы агрономии. Большой интерес у читателей всегда вызывают разработки, связанные с энергосберегающим земледелием, внедрением новых ресурсосберегающих технологий возделывания с.-х. культур, в том числе так называемых технологий точного земледелия. Особое внимание в журнале уделяется новым способам и методам защиты от вредителей и болезней, технологиям хранения и переработки сельхозпродукции, использованию достижений биотехнологии и информационных технологий непосредственно в фермерском хозяйстве и др.

На правах рекламы

**ОБРАТИТЕ ВНИМАНИЕ!** Получить счет для оплаты подписки через редакцию можно, прислав заявку в произвольной форме на адрес: [podpiska@panor.ru](mailto:podpiska@panor.ru)  
 Подробнее о подписке — на сайте [www.panor.ru](http://www.panor.ru), тел. (495) 664-27-61