

УДК 576.371 : 57.086.13

**РАЗРАБОТКИ ЮЖНОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН  
В ОБЛАСТИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ КЛЕТОК РЫБ**

© 2018 М.М. Белая, А.А. Красильникова, Е.Н. Пономарева

Федеральный исследовательский центр Южный научный центр  
Российской академии наук, г. Ростов-на-Дону

Статья поступила в редакцию 02.10.2018

В статье рассматриваются вопросы низкотемпературного консервирования репродуктивных клеток рыб сотрудниками Южного научного центра Российской академии наук. Отмечено, что удалось усовершенствовать методику замораживания спермы рыб, которая показывает стабильно высокие результаты по выживаемости и активности дефростированных сперматозоидов (80-90 %). При хранении образцов репродуктивных клеток в жидком азоте, их качество не изменяется на протяжении долгого времени. На основании проведенных исследований создан криобанк генетического материала рыб.

*Ключевые слова:* биоразнообразие, криоконсервация, репродуктивные клетки, редкие и исчезающие виды рыб, криобанк

*Работы выполнены в рамках реализации Гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых МК-159.2017.11 и ГЗ ЮНЦ РАН «Оценка современного состояния, анализ процессов формирования водных биоресурсов южных морей России в условиях антропогенного стресса и разработка научных основ технологии реставрации ихтиофауны, сохранения и восстановления хозяйственно ценных видов рыб», № государственной регистрации 01201354245» с использованием Биоресурсной коллекции редких и исчезающих видов рыб ЮНЦ РАН № 73602.*

Сохранение биоразнообразия естественных популяций рыб является неотъемлемой частью современной науки. В условиях катастрофического снижения численности большого количества ценных промысловых рыб в последние годы, а также в связи с нарушением видового и популяционного баланса, этот вопрос становится особенно актуальным.

В настоящее время гидрология ряда рек изменена настолько, что многие виды рыб не имеют возможности воспроизводства естественным путем [1].

Для сохранения и восполнения численности отдельных популяций рыб разработаны биотехнологии искусственного воспроизводства на различных рыбоводных предприятиях. В их основу положены принципы содержания и использования производителей из маточных стад, содержащихся на предприятии, что, в свою оче-

редь, ограничивает число особей, скрещивающихся между собой, и приводит впоследствии к инбридингу. Кроме того, в формировании маточных стад на рыбоводных заводах, особенно осетровых, отсутствуют какие-либо принципы и, зачастую, оно носит стихийный характер, что связано с нехваткой производителей.

Все это отражается на качестве (физиологическая, генетическая полноценность) молоди, выпускаемой с рыбоводных заводов [2-5]. Отмечено, что выпуск «заводской» молоди осетровых в водоемы увеличивает долю гетерозигот в популяции, а это приводит к сокращению численности и постепенной деградации потомства [6-9].

Криоконсервация остается одним из наиболее привлекательных и быстроразвивающихся направлений сохранения редких исчезающих видов. Наличие в криобанке генетически репрезентативных коллекций геномов рыб и маточных стад на рыбоводных заводах позволяет с максимальным эффектом сохранить генетическое разнообразие ценных промысловых объектов [10].

В настоящее время имеются данные о сохранении живых органелл, клеток, тканей, органов и целых организмов при сверхнизких температурах в течение длительного периода времени. Криоконсервацию широко используют для хранения спермы и эмбрионов млекопитающих, но исследований по криосохранению клеток морских гидробионтов немного.

---

*Белая Мария Михайловна, кандидат биологических наук, научный сотрудник Отдела водных биоресурсов бассейнов южных морей.*

*E-mail: mashabogat@gmail.com*

*Красильникова Александра Андриановна, кандидат биологических наук, научный сотрудник Отдела водных биоресурсов бассейнов южных морей.*

*E-mail: alexandra.kras@yandex.ru*

*Пonomareva Елена Николаевна, профессор, доктор биологических наук, заведующая Отделом водных биоресурсов бассейнов южных морей. E-mail: kafavb@mail.ru*

Полученные результаты по дефростированной сперме, а также по оплодотворяемости ее икры различных видов рыб нестабильны и варьируют в широких пределах (10-90 %). Тем не менее, для сохранения редких и исчезающих видов существующие методы криоконсервации их спермы пригодны для замораживания биоматериала, хранения в коллекционных банках и восстановления гидробионтов.

Однако проблема создания криотехнологий для больших объемов спермы, необходимых для формирования производственных криобанков, внедрения криотехнологий в производство решается очень медленно. Можно повысить эффективность существующей системы селекционно-племенных хозяйств и рыбоводных заводов, если использовать криотехнологии в процессе воспроизводства промысловых и заводских популяций.

Вопросами сохранения редких и исчезающих видов рыб методами низкотемпературного консервирования занимаются ученые Южного научного центра Российской академии наук (ЮНЦ РАН) с 2004 г. Разработки и достижения подтверждены патентами, ноу-хау, публикациями в ведущих российских и зарубежных изданиях [10-29].

До настоящего времени нет универсальной методики криоконсервации репродуктивных клеток рыб, что связано с их видоспецифичностью, обусловленной различным строением спермиев и яйцеклеток у разных видов рыб.

Способы криоконсервации различаются обычно: по составу основного криозащитного раствора и наличию дополнительных компонентов (сахара, белки, яичный желток, липиды); по скоростям охлаждения; используемому криопротектору; объему замораживаемого материала [30, 31].

Считается, что существенную роль в криоповреждении могут играть кристаллы льда, формирующиеся при замерзании криозащитных растворов.

Образование кристаллов льда наряду с другими негативными факторами (осмотический шок, латеральная диффузия липидов и белков, рекристаллизация при оттаивании, токсичность растворов криопротекторов) значительно снижает выживаемость клеток после процедуры замораживания-оттаивания при криоконсервации живых клеток и, в частности, сперматозоидов [32].

При поиске эффективных криозащитных составов надо учитывать не только размер и периметр кристаллов льда, образующихся при замерзании криозащитного раствора, но и форму кристаллов. Наиболее эффективны криозащитные растворы, при замерзании которых образуются кристаллы округлой формы, или наблюдается картина, близкая к стеклованию [33].

Сотрудниками ЮНЦ РАН разработаны оптимальные составы криосред для осетровых, карповых, белорыбицы [16, 17, 20, 22], обеспечивающие высокий уровень выживаемости дефростированных сперматозоидов (60-85 %) [34].

При охлаждении клеток важно избежать образования внутриклеточного льда или минимизировать процесс. При быстром замораживании (выше 100 °С/мин) внутриклеточная вода не успевает выйти из клеток, переохлаждается, что приводит к образованию кристаллов льда внутри клеток [35]. При медленном замораживании (менее 0,1 °С/мин) клетки теряют много воды, а это ведет к сжатию и лизису клеток. Поэтому для успешной криоконсервации необходим баланс между двумя негативными факторами: образованием внутриклеточного льда и осмотическими эффектами [36].

По результатам работ сотрудников ЮНЦ РАН определены оптимальные скорости замораживания для разных видов рыб. Так установлено, что для русского осетра оптимальная скорость замораживания 3 °С/мин [17], для белорыбицы – сверхскоростное замораживание на тефлоновой пластине [20], для карповых – ступенчатый режим замораживания (6 °С/мин в течение 6 минут, 10 °С/мин, в течение 4 минут, затем погружение в жидкий азот) [14, 37, 38, 39].

Для улучшения проникновения криораствора в клетки научные сотрудники ЮНЦ РАН разработали методику электростимуляции спермы рыб перед эквilibрацией. Так, установлено, что при воздействии прямоугольного низкочастотного сигнала на семенную жидкость, увеличивается процент живых клеток после дефростации [10, 15, 17-19].

Однако все криопротекторы оказывают токсическое воздействие на сперму рыб при длительном контакте [34, 40-43]. После размораживания часто отмечаются живые сперматозоиды, которым не хватает энергии для активации движения. Также установлено, что дефростированные спермии начинают двигаться не сразу после активации водой, а спустя некоторое время [44]. Для снижения негативного влияния криопротекторов создан метод выведения токсических веществ из репродуктивных клеток [10, 17, 21].

На основе проведенных исследований сотрудниками ЮНЦ РАН усовершенствована технология криоконсервации спермы рыб (Рис. 1) [10, 17].

Из рисунка 1 видно, что качество дефростированной спермы, замороженной по усовершенствованной схеме, значительно выше, чем по традиционной схеме. Сперму такого высокого качества целесообразно использовать для оплодотворения икры, а также для формирования криобанка.

Применение электростимуляции и выведения криопротектора из половых клеток после



**Рис. 1.** Качество спермы рыб в процессе криоконсервации с использованием усовершенствованной схемы

дефростации увеличивает репродуктивные качества спермы рыб. Каждое из новых звеньев процесса криоконсервации способствует улучшению качества спермы, однако применение их в совокупности дает наилучший эффект (Рис. 2).

Однако активность и время жизни сперматозоидов являются субъективными показателями качества. Наиболее убедительными тестами успешности криоконсервации служат оплодотворение размороженными сперматозоидами и последующий анализ полученных эмбрионов.

Сначала проводят оплодотворение икры в лабораторных условиях в небольших количествах, а затем в производственных условиях на крупных партиях икры.

В лабораторных условиях получены стабильно высокие показатели оплодотворения икры дефростированной спермой осетровых рыб – 80-90 %. Показатели оплодотворения икры тех же партий нативной спермой в условиях рыбоводного завода составили 70-75 %.

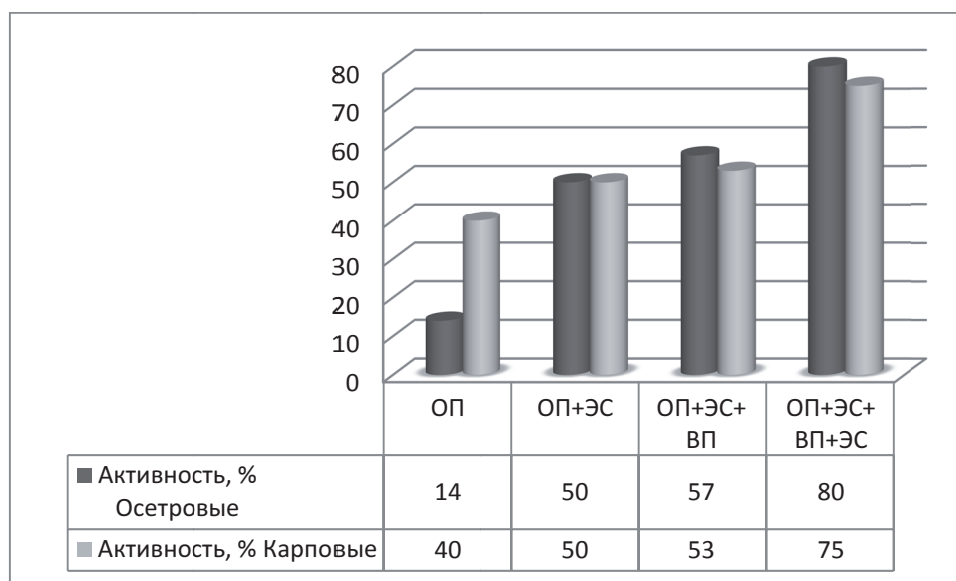
Это объясняется тем, что для каждой партии спермы свойственна гетерогенность структуры. Наиболее активные спермии, способные к высокому проценту оплодотворения составляют, как правило, 25%; 60% партии – сперма среднего качества, спермии которой способны к оплодотворению, и третья составляющая 15% – нежизнеспособная сперма [45].

В процессе низкотемпературного консервирования в первую очередь гибели подвержены слабые спермии, после дефростации живыми остаются более сильные, способные к высокому уровню оплодотворения спермии. Таким образом, криоконсервация может служить способом получения элитных сперматозоидов, дающих мощное, физиологически полноценное потомство.

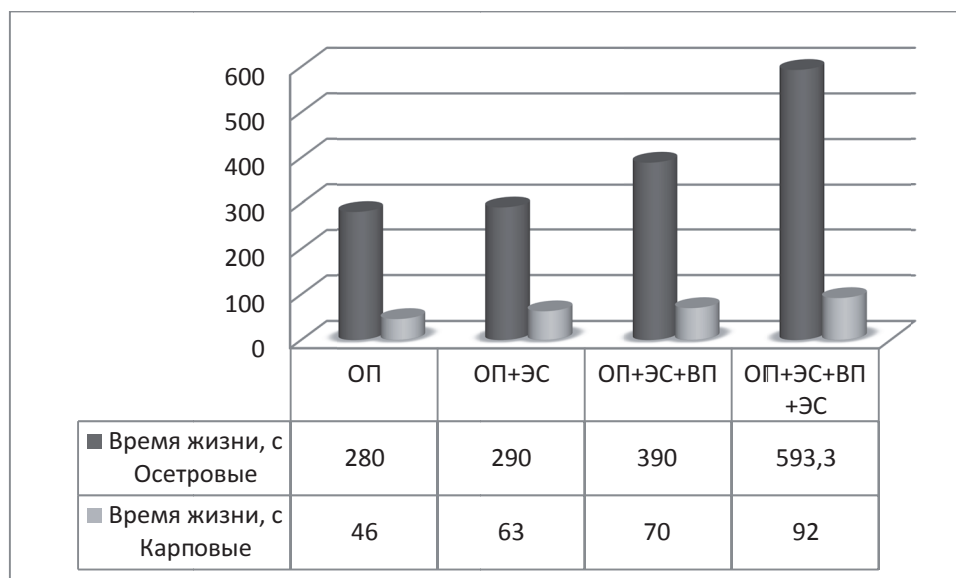
Это подтверждается исследованиями по оплодотворению икры в условиях рыбоводных заводов, проведенными с использованием дефростированной спермы русского осетра и белорыбицы [10, 20]. Отмечено, что полученное потомство по морфометрическим и физиологическим показателям не уступает нативному, а зачастую и превосходит его [10, 26, 28].

На основе усовершенствованной методики низкотемпературного консервирования половых клеток рыб начато формирование криобанка-репродуктора, основной целью которого является сохранение генетического разнообразия рыб и обеспечение рыбоводных предприятий репродуктивными клетками в необходимом количестве.

Криобанк ежегодно пополняется образцами спермы различных видов рыб. В настоящее время на долгосрочное хранение заложено более 12 л спермы ценных видов рыб (русский осетр, белуга, севрюга, стерлядь, веслонос, шип, белорыбица).



А



Б

**Рис. 2.** Изменение качества дефростированной спермы при использовании разных способов криоконсервации:

А – активность дефростированной спермы, с; Б – время жизни спермиев, с;  
ОП – применение оптимальных протекторов, ЭС – электростимуляция, ВП – выведение протектора из клеток

Ведется систематическая проверка качества спермы, хранящейся в криобанке. Установлено, что за это время сперма не утрачивает оплодотворяющей способности (Табл. 1).

Полученные данные сопоставимы с теоретическими расчетами времени хранения спермы, при котором не изменяется качество спермы. По мнению некоторых авторов [32] хранить образцы спермы можно сотни лет без утраты их функций.

Также сотрудники ЮНЦ РАН проводят исследования по замораживанию яйцеклеток рыб. Получены стабильные результаты по сохранению

целостности оболочек икры после дефростации, а также проведены работы по оплодотворению дефростированной икры спермой [46, 47].

Сохранение репродуктивных клеток в криобанке позволяет получать необходимое количество дефростированных половых продуктов рыб в любое удобное время вне зависимости от внешних факторов. Получение свежей (нативной) спермы и икры может растягиваться на неопределенное время из-за долгого созревания производителей, также есть риск, что сперма или икра будет низкого качества или не будет получена вовсе. Криоконсервированную сперму



**Таблица 1.** Качество спермы стерляди после долгосрочного хранения в жидком азоте

Срок хранения, год	Активность дефростированной спермы, %	Процент оплодотворения
1	92±2,3	67±3,3
2	90±2,0	69±2,7
3	90±1,9	70±2,8
4	90±1,8	67±1,9
5	90±2,4	69±2,2
6	90±2,1	70±1,7

можно хранить десятилетиями в жидком азоте без изменения репродуктивных показателей, в то время как нативная сохраняет свои качества в течение 3-4 суток. Ежегодное пополнение и обновление коллекции образцов репродуктивных клеток позволяет расширить генофонд воспроизводимых видов рыб; дает возможность выбора половых клеток с высокими репродуктивными качествами для проведения селекционных работ и товарного выращивания рыб.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Подушка, С.Б. Кризис заводского воспроизводства в России и возможные пути его преодоления / С.Б. Подушка // Научно-технический бюллетень лаборатории ихтиологии ИНЭНКО. – 2007. № 12. – С. 5-15.
2. Алтухов, Ю.П. Генетика популяций и сохранение биоразнообразия / Ю.П. Алтухов // Соросовский общобразовательный журнал, 1995. № 1. – С. 32-45.
3. Алтухов, Ю.П. Перепроизводство молоди рыбободными заводами как причина деградации волжского стада русского осетра / Ю.П. Алтухов, А.Н. Евсюков // ДАН СССР. – 2001. – Т. 380, № 2. – С. 273-275.
4. Рябова, Г.Д. О возможном влиянии рыбободства на генетические и биологические характеристики севрюги / Г.Д. Рябова, М.В. Офицеров, В.О. Климонов // Состояние и перспективы научно-практических разработок в области марикультуры России. – М.: ВНИРО, 1996. – С. 269-274.
5. Рябова, Г.Д. Влияние рыбободства на генотипические и фенотипические характеристики волжской поздней яровой севрюги / Г.Д. Рябова, В.О. Климонов, К.И. Афанасьев // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. – М.: ВНИРО, 2006. – С. 213-216.
6. Алтухов, Ю.П. Генетические последствия селективного рыбободства и рыбободства / Ю.П. Алтухов // Вопросы рыбободства. – 2000. – Т. 2, № 4 (8). – С. 562-603.
7. Варнавская, Н.В. Генетическая дифференциация популяций тихоокеанских лососей / Н.В. Варнавская. – Петропавловск-Камчатский: Изд-во КамчатНИРО, 2006. – 488 с.
8. Рябова, Г.Д. Генетическая изменчивость в природных популяциях и доместичированных стадах осетровых рыб России. Атлас аллозимов / Г.Д. Рябова, В.О. Климонов, Е.И. Шишанова. – М.: Рос-сельхозакадемия, 2008. – 94 с.
9. Шишанова, Е.И. Влияние криоконсервации спермы на выживаемость и генетический полиморфизм личинок русского осетра / Е.И. Шишанова, И.В. Тренклер, А.С. Мамонова // Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство. 2012, № 2. – С.105-111.
10. Богатырева, М.М. Оптимизация методов криоконсервации спермы для сохранения генофонда осетровых рыб: автореф. дис. канд. биол. наук: 03.02.06 / Богатырева Мария Михайловна. Астрахань, 2010. – 20 с.
11. Ponomareva, E.N. Cryotechnologies of preservation of genofund of sturgeon fishes / E.N. Ponomareva, V.G. Bukin, M.M. Bogatyreva // Science and Technology. - Book 4. - Atyrau, 2006. -P. 94-96.
12. Букин, В.Г. Сохранение популяционного генофонда производителей осетровых рыб естественной генерации методами криоконсервации / В.Г. Букин, Е.Н. Пономарева, М.М. Богатырева // Современные проблемы аридных и семиаридных экосистем юга России: Сборник научных статей / Отв. Ред. Г.Г. Матишов. – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2006. – С. 563-572.
13. Богатырева, М.М. Результаты хранения образцов спермы севрюги / М.М. Богатырева, Н.В. Болонина, Е.Н. Пономарева, А.М. Тихомиров // Вестник АГТУ. – 2008. № 3 (44). – С. 22-25.
14. Тихомиров, А.М. Теоретические и экспериментальные основы криоконсервации геномов редких и исчезающих видов животных: Курс лекций. Учебное пособие / А.М. Тихомиров, М.М. Богатырева. – Астрахань, АГТУ, 2008. – 172 с.
15. Пономарева, Е.Н. Повышение эффективности криоконсервации половых клеток севрюги с помощью электростимуляции / Е.Н. Пономарева, М.М. Богатырева, Н.В. Болонина, А.М. Тихомиров // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. 2009. № 1. – С. 100-103.
16. Пономарева, Е.Н. Оптимизация процесса криоконсервации спермы осетровых рыб при использовании различных сред / Е.Н. Пономарева, М.М. Богатырева, Н.А. Антонова, В.П. Осипова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 132-134.
17. Пономарева, Е.Н. Роль криобанка репродуктивного материала гидробионтов для поддержания биологического разнообразия и развития морских территорий: препринт-рекомендации / Е.Н. Пономарева, М.М. Богатырева, А.М. Тихомиров, Е.С. Джаригазов. – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2009. – 44 с.

18. Пономарева Е.Н., Тихомиров А.М., Богатырева М.М., Болонина Н.В., Джаригазов Е.С. Способ повышения выживаемости половых клеток осетровых рыб при криоконсервации // Патент России № 2399201. 2009.
19. Пономарева, Е.Н. Повышение выживаемости половых клеток в процессе криоконсервации с использованием электростимуляции / Е.Н. Пономарева, М.М. Богатырева, А.М. Тихомиров // Доклады академии наук. 2010. - Т. 431, № 2. - С. 264-265.
20. Тихомиров, А.М. Разработка криозащитных сред для низкотемпературного консервирования сперматозоидов белорыбицы (*Stenodus Leucichthys Guldenstadti*, 1772) в целях сохранения генофонда / А.М. Тихомиров, М.М. Богатырева, А.А. Красильникова // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. - 2011. № 1. - С.58-62.
21. Матишов, Г.Г. Сохранение генетического разнообразия рыб методами низкотемпературного консервирования / Г.Г. Матишов, Е.Н. Пономарева, М.М. Белая // Рыбное хозяйство. - 2012. № 3. - С. 59-62.
22. Osipova, V.P. Cryoprotective effect of phosphorous-containing phenolic anti-oxidant for the cryopreservation of beluga sperm / V.P. Osipova, M.N. Kolyada, E.N. Ponomareva, M.M. Belaya, N.T. Berberova, E.R. Milaeva // Cryobiology. - 2014. - V. 69, № 3. - P. 467-472.
23. Андреев А.А., Садикова Д.Г., Пономарева Е.Н., Красильникова А.А., Белая М.М. Способ снижения низкотемпературного скачка растворов криопротекторов // Патент России № 2540598. 2014.
24. Красильникова, А.А. Совершенствование процесса криоконсервации репродуктивных клеток самцов рыб: автореф. дис. канд. биол. наук: 06.04.01 / Красильникова Александра Андриановна. – Астрахань, 2015. - 24 с.
25. Пономарева, Е.Н. Новые биотехнологические методы криоконсервации репродуктивных клеток осетровых видов рыб / Е.Н. Пономарева, А.А. Красильникова, А.М. Тихомиров, А.В. Фирсова // Юг России, развитие. - 2016. - Т. 11, № 1. - С. 59-68.
26. Пономарева, Е.Н. Использование криоконсервированной спермы для формирования маточного стада стерляди / Е.Н. Пономарева, А.Н. Неваленный, М.М. Белая, А.А. Красильникова // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. - 2017. № 4. - С. 118-127.
27. Пономарева, Е.Н. Криоконсервация репродуктивных клеток рыб: история и перспективы / Е.Н. Пономарева, А.А. Красильникова, А.В. Фирсова, М.М. Белая // Рыбное хозяйство. - 2017. № 4. - С. 85-88.
28. Красильникова, А.А. Получение жизнеспособной молоди русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) при использовании криоконсервированной спермы и оценка поведенческих реакций у криопотомства / А.А. Красильникова, А.М. Тихомиров // Сельскохозяйственная биология. - 2018. - Т. 53, № 4. - С. 762-768.
29. Пономарева, Е.Н. Криоконсервация репродуктивного материала рыб: разработки Южного научного центра Российской академии наук / Е.Н. Пономарева, А.М. Тихомиров, М.М. Богатырева, А.А. Красильникова // В сб.: Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы азово-черноморского региона. Материалы VII Междуна-
- родной конференции. 2012. С. 55-58.
30. Матишов, Г.Г. Справочник рыбовода. Инновационные технологии аквакультуры юга России; под ред. С.В. Пономарева / Г.Г. Матишов, С.В. Пономарев, Ю.М. Баканева, Н.В. Болонина, Ю.Н. Грозеску, А.А. Кокоза, В.М. Распопов, Е.Н. Пономарева, Ю.В. Федоровых, Л.Ю. Лагуткина, М.М. Белая, А.А. Бахарева, А.А. Красильникова. Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2013. 224 с.
31. Красильникова, А.А. Объем замораживаемого образца как один из факторов выживаемости сперматозоидов осетровых видов рыб при криоконсервации / А.А. Красильникова, А.М. Тихомиров // Естественные науки. 2014, № 2. С. 62-69.
32. Белоус, А.М. Криобиология / А.М. Белоус, В.И. Грищенко. - К., Наукова думка, 1994. - 431 с.
33. Андреев, А.А. Образование льда при заморзании криозащитных растворов / А.А. Андреев, Д.Г. Садикова, Е.А. Назина, Э.Н. Гахова // Ветеринарная патология. - 2007. № 4. - С. 231-234.
34. Красильникова, А.А. Корреляция объемов эндоцеллюлярного протектора в криозащитных средах и внутриклеточной жидкости сперматозоидов осетровых рыб / А.А. Красильникова, А.М. Тихомиров // Естественные науки. 2015, № 3 (52). С. 105-111.
35. Mazur, P. Equilibrium, quasi-equilibrium, and nonequilibrium freezing of mammalian embryos / P. Mazur // Cell Biophys. - 1990. Vol. 17. - P. 53-92.
36. Hazel, J.R. Thermal adaptation in biological membranes. Is homeoviscous adaptation the explanation? / J.R. Hazel // Annu. Rev. Physiol. - 1995. Vol. 57. - P. 19-42.
37. Красильникова, А.А. Эффективность низкотемпературного консервирования репродуктивных клеток осетровых рыб при различных скоростях замораживания и оттаивания / А.А. Красильникова, А.М. Тихомиров // Рациональное использование и сохранение водных биоресурсов: материалы Международной научной конференции, приуроченной к пятилетию открытия базовой кафедры ЮНЦ РАН «Технические средства аквакультуры» в ДГТУ (г. Ростов-на-Дону, 17-18 февраля 2014 г.). – Ростов н/Д: Издательство ЮНЦ РАН, 2014. – С. 118-120.
38. Красильникова, А.А. Криоконсервация сперматозоидов осетровых рыб при различных скоростях замораживания / А.А. Красильникова // Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации в свете импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности страны: материалы III национальной научно-практической конференции, Казань, 3-5 октября 2018 г. / под ред. А.А. Васильева – Саратов: Амирит, 2018. – С. 179-183.
39. Krasilnikova, A.A. Alternative methods of preparation of fish sperm to freeze at ultra-high values of cooling rate / A.A. Krasilnikova, A.M. Tikhomirov // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия Рыбное хозяйство. Астрахань, Издательство Астраханского государственного технического университета. 2014, № 2. С. 72-78.
40. Копейка, Е.Ф. Криоконсервирование спермы рыб / Е.Ф. Копейка, А.Н. Новиков // Криоконсервирование клеточных суспензий / Под ред. А.А. Цуцаевой. – Киев: Наукова Думка, 1983. – С. 204-215.

41. Желтоножко, О.В. Криоконсервация и создание низкотемпературного банка спермы лососей Дальнего Востока: автореф. дис. канд. биол. наук: 06.02.01 / Желтоножко Олег Владимирович. – Лесные Поляны, Моск. обл., 1997. – 24 с.
42. Ананьев, В.И. Проблемы сохранения геномов лососевых и осетровых рыб / В.И. Ананьев, Л.И. Цветкова, М.С. Манохина, Л.П. Рыжов, О.Б. Докина // Рыбное хозяйство. Серия «Аквакультура». Аналит. информ. «Проблемы сохранения геномов лососевых и осетровых рыб». – М.: ВНИЭРХ, 1998. – Вып. 1. – С. 2-24.
43. Глаговски, Я. Оценка качества криоконсервированных молок сибирского осетра / Я. Глаговски, Р. Кольман, П. Сечиньски, П. Пирос // «Осетровые на рубеже XXI века». – Астрахань, 2000. – С. 229-230.
44. Тихомиров, А.М. Результаты криоконсервации сперматозоидов себрюги с использованием разных криопротекторов. / А.М. Тихомиров // Консервация генетических ресурсов. Мат. XVI совещ. – Пушино: ИБК РАН, 2002. – С. 56-61.
45. Вернадский, В.И. Биосфера и ноосфера / В.И. Вернадский. – М.: Астрис-пресс, 2004. – 576 с.
46. Фирсова, А.В. Действие обвалакивающих криопротекторов и их плотности на икру рыб при ее криоконсервации / А.В. Фирсова // Естественные науки. – 2015. № 4 (53). – С. 116-119.
47. Фирсова, А.В. Подбор температурных режимов замораживания при криоконсервации яйцеклеток белорыбицы / А.В. Фирсова // Естественные науки. – 2017. № 4 (61). – С. 182-185.

## THE DEVELOPMENTS OF SOUTHERN SCIENTIFIC CENTER OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES IN THE FIELD OF CRYOPRESERVATION OF REPRODUCTIVE CELLS OF FISH

© 2018 M.M. Belaya, A.A. Krasilnikova, E.N. Ponomareva

Southern Scientific Center of the Russian academy of Sciences

In the article the questions of low-temperature conservation of reproductive cells of fish by employees of Southern scientific center of the Russian academy of Sciences are considered. It was noted that it was possible to improve the method of freezing fish sperm, which shows consistently high results on the survival and activity of defrosted sperm (80-90 %). During the storage of samples of reproductive cells in liquid nitrogen the quality of them does not change for a long time. On the base of conducted researches a cryobank of the genetic material of fish was created.

*Keywords:* biodiversity, cryopreservation, reproductive cells, rare and vanishing fish species, cryobank

---

*Mariya Belaya, PhD, Researcher of the Department of Biological Bioresources of the Basins of Southern Seas.*

*E-mail: mashabogat@gmail.com*

*Aleksandra Krasilnikova, PhD, Researcher of the Department of Biological Bioresources of the Basins of Southern Seas.*

*E-mail: alexandra.kras@yandex.ru*

*Elena Ponomareva, Professor, Doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Biological Bioresources of the Basins of Southern Seas. E-mail: kafavb@mail.ru*