

УДК 639.3.034.2

DOI 10.33920/sel-09-2008-06

ГИПОТЕРМИЧЕСКОЕ ХРАНЕНИЕ СПЕРМЫ ОСЕТРОВЫХ РЫБ: МЕТОДОЛОГИЯ И ИСТОРИЯ С ПРОДОЛЖЕНИЕМ

Д. А. Исаев

ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»,
Россия, Московская область, Ногинский р-н, пос. им. Воровского

E-mail: dmais@hotmail.ru

Аннотация. Гипотермическое хранение спермы в жидком состоянии без замораживания, без использования жидкого азота, сухого льда и специального криологического оборудования является интересным и привлекательным с практической точки зрения направлением исследований в репродуктивной биологии. Гипотермия исторически является самым первым подходом к сохранению генетического материала, но, несмотря на это, методы гипотермического хранения гамет и эмбрионов не получили должного развития и применения в животноводстве, уступив эту нишу криоконсервации. Одной из главных причин этого является высокая видоспецифичность по устойчивости к гипотермическому хранению. Существующие в настоящее время и рекомендованные к применению в рыбоводстве, и в частности в осетроводстве, технологии гипотермического хранения спермы всё ещё недостаточно эффективны и требуют дальнейшей разработки. В этом кратком обзоре изложена история разработки технологий гипотермического хранения спермы осетровых рыб, рассмотрены некоторые методологические подходы, концепции и идеи, лежащие в основе этих разработок. Репродуктивная система самцов осетровых рыб, строение и физиология сперматозоидов имеют ряд особенностей, отличающих их от костистых рыб, но отчасти сближающих с амфибиями и высшими позвоночными. Это позволило применить некоторые удачные подходы и достижения в разработке методов гипотермического хранения спермы млекопитающих (мыши и человека) к осетровым рыбам. Так, наиболее результативным и, возможно, перспективным подходом является частичная или полная замена семенной плазмы бессолевыми изотоническими растворами на основе сахаров (олигосахаридов) и альбумина. Цель этого обзора — привлечь внимание рыбоводов и исследователей к разработкам и достижениям в направлении гипотермического хранения спермы.

Ключевые слова: осетровые рыбы, хранение спермы, гипотермия.

HYPOTHERMIC STORAGE OF STURGEON SPERM: METHODOLOGY AND ONGOING HISTORY

D. A. Isaev

Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Russia,
Moscow region, Noginsk district, Vorovsky village

Abstract. Hypothermic storage of sperm in a liquid state without freezing, without the use of either liquid nitrogen or dry ice as well as special cryological equipment is an interesting and attractive research line in reproductive biology in terms of practical application. Historically,

hypothermia is the very first approach to the preservation of genetic material, but, despite this, the methods of hypothermic storage of gametes and embryos have not received proper development and application in animal husbandry, giving way to cryopreservation. One of the main reasons for this is the high species-specific resistance to cold storage. The technologies for hypothermic storage of sperm existing today and recommended for use in fish farming and in sturgeon breeding in particular are still not effective enough and require further improvement. This short review outlines the history of the development of technologies for the hypothermic storage of sturgeon sperm, considers a number of methodological approaches, concepts and ideas behind these developments. The male reproductive system in sturgeons, the structure and physiology of spermatozoa have a number of features that distance them from teleost fishes, but partly relate to amphibians and higher vertebrates. This made it possible to apply to sturgeons some successful approaches and achievements in the development of methods for hypothermic storage of mammalian (mouse and human) sperm. Thus, the most effective and possibly promising approach is partial or complete replacement of seminal plasma with salt-free isotonic solutions based on sugars (oligosaccharides) and albumin. The purpose of this review is to draw the attention of fish farmers and researchers to developments and advances in hypothermic sperm storage.

Keywords: sturgeons, sperm storage, hypothermia.

Естественным способом сохранения биологических объектов и продуктов биологического происхождения является охлаждение вплоть до полного замораживания, приводящее к снижению скорости химических и биохимических реакций. Сохранение и восстановление жизнеспособности биологических объектов (клеток, тканей, организма в целом) после воздействия низких температур достигается за счет обратимого снижения уровня или полного прекращения метаболизма — низкотемпературного анабиоза. Такое физиологическое состояние определяется как гипотермия. Необходимость сохранения спермы животных в течение некоторого времени связана с появлением и развитием технологий искусственного оплодотворения, поскольку, во-первых, позволяет проводить искусственное осеменение отсроченно и, таким образом, планировать репродуктивные процедуры, а во-вторых, делает возможной транспортировку генетического материала. Первое особенно важно в рыбоводстве, поскольку позволяет решить проблему неодновременного созревания гамет

у самцов и самок во время проведения нерестовых кампаний.

Краткая предыстория гипотермического хранения спермы позвоночных

Документированная история научных исследований по гипотермическому хранению спермы начинается с выполненных в конце XVIII в. опытов итальянского аббата Лаззаро Спалланцани по охлаждению на снегу спермы жеребца, быка и человека [36]. Изучая природу и свойства спермы животных и человека, Спалланцани проводил многочисленные эксперименты, в том числе и по влиянию температуры на подвижность сперматозоидов. В трактате, изданном в 1803 г., Спалланцани описывает эксперимент по охлаждению спермы жеребца на снегу: «Наблюдая, что сперматозоиды (ориг. *Vermiculi*. — Прим. автора) стали полностью неподвижными, я взял стекло со снега и оставил на воздухе при 81° (по Фаренгейту, +27,2 °С. — Прим. автора). Спустя час я был изумлен, обнаружив, что все сперматозоиды ожили так, как если бы они были только что изверг-

нуты из семенных пузырьков». Тот же результат был получен Спалланцани при охлаждении в течение 5–10 минут на снегу спермы быка и человека.

Опыты Спалланцани послужили первой научной основой для гипотермического сохранения спермы животных. Развитие и широкое применение технологий искусственной инсеминации у животных в конце XIX — начале XX в., в основном благодаря работам русского ученого И.И. Иванова [21], потребовало совершенствования методов хранения спермы в течение времени, достаточного для транспортировки или для планирования инсеминации. К началу 1940-х гг. были разработаны буферные растворы-разбавители на основе яичного желтка, позволяющие сохранять сперму сельскохозяйственных животных при температурах около +5 °C в течение как минимум трех суток [25, 33].

В рыбоводстве способность спермы рыб к непродолжительному хранению при температуре 0...+5 °C известна довольно давно [9]. Первые экспериментальные разработки со спермой лососевых рыб проводились не позже 1940-х гг. [34]. В качестве первого опубликованного успешного опыта хранения спермы костистых рыб без замораживания более суток упоминают работу Butcher (1944), где сперма ручьевой форели *Salmo fario* сохраняла способность к оплодотворению в течение 5 дней хранения под парафиновым маслом при температуре +2,2 ... +3,3 °C [17]. Детлаф и соавт. [35] указывают на более ранние работы Шмидтова (1936) [13] и Персова (1941) [7], в которых сперма осетровых рыб сохранялась на льду в течение 5–6 суток.

В 1949 г. Polge et al. сообщили об успешной криоконсервации при –79 °C спермы человека, где в качестве криозащитного агента (криопро-

тектора) был использован глицерин [27]. Принято считать, что эта работа положила начало широким научным исследованиям в области криобиологии и разработкам практических подходов к криоконсервации биологических объектов. Массовое промышленное производство жидкого азота после Второй мировой войны сделало привлекательной идею длительного хранения биологических объектов при сверхнизких температурах и способствовало развитию криобиологии. Криоконсервация становится господствующим подходом в сохранении спермы животных и человека, позволяя создавать криобанки и генетические коллекции, хранить материал неограниченно долго и транспортировать на большие расстояния. В начале 1950-х гг. появляется множество публикаций, посвященных криоконсервации спермы различных видов животных, в том числе рыб [16].

Вместе с тем гипотермическое хранение спермы без замораживания не утратило актуальности, так как может более эффективно решать задачи, не связанные с длительным хранением материала. Значительно уступая криоконсервации по длительности, гипотермическое хранение обладает рядом преимуществ: не зависит от источника жидкого азота или сухого льда, не требует специального криобиологического оборудования, делает транспортировку генетического материала безопасной и удобной. Кроме того, разработка методов криоконсервации спермы различных видов животных сразу же столкнулась со множеством проблем, в числе которых видоспецифичность и зависимость от качества материала, что затрудняет стандартизацию технологий при внедрении, снижает эффективность и воспроизводимость результатов. Таким образом, наряду с разработкой методов криоконсерва-

ции спермы, поиск эффективных подходов к гипотермическому хранению не прекратился.

Концепции в основе методологии гипотермического хранения спермы рыб

В основе разработки методов и технологий сохранения спермы животных без замораживания ярко выделяются три интерферирующие концепции.

Физиологическая консервация спермы. Концепция основана на широко известных фактах длительного сохранения спермы у многих животных в неактивном состоянии в половых путях или ассоциированных с ними специализированных органах как у самцов, так и у самок [11]. Примечательно, что сперма сохраняется при температурах метаболической активности клеток. В свете этой концепции рыбы интересны тем, что до попадания в воду зрелые сперматозоиды в гонадах находятся в неактивном, dormantном состоянии.

Химический анабиоз. Концепция состоит в обратимом подавлении метаболизма и деструктивных химических и физико-химических процессов при помощи химических веществ [12].

Собственно гипотермическое хранение. В данном случае снижение температуры приводит к снижению как ферментативной активности, так и скорости химических реакций в целом. Здесь следует сделать важное замечание в отношении применения понятия «гипотермия» к рыбам, являющимся пойкилотермными (эктотермными) организмами, для многих из которых околонулевые положительные температуры являются физиологической нормой. Таким образом, для сперматозоидов этих рыб более корректно говорить о состоянии гипотермического гипобиоза, который поддерживается за счет особых фи-

зико-химических и/или физиолого-биохимических условий. Именно это делает невозможным разработку технологий гипотермического хранения спермы рыб строго в рамках концепции гипотермии и требует знаний об особенностях физиологии и биохимии сперматозоидов каждого вида.

Развитие технологий гипотермического хранения спермы осетровых рыб — идеи, подходы, методы

«Классическое» хранение в открытой посуде и негерметичных емкостях. Исторически самый первый и до сих пор распространенный в основном среди практикующих рыбоводов подход основан на представлении о том, что никакие специальные ухищрения для гипотермического хранения не требуются — сперма рыб может сохраняться по меньшей мере несколько суток в холодильнике или на льду (ледяной бане) в открытых или закрытых ватно-марлевой пробкой сосудах. Этот способ, с незначительными различиями в деталях, приводится во многих пособиях и учебниках по рыбоводству [10]; именно к нему часто прибегают во время проведения нерестовых кампаний. В таком состоянии сперма сохраняет оплодотворяющую способность в течение нескольких часов, и даже суток. Встречаются отдельные упоминания о сохранности спермы в течение 2–3 недель. По данным Aramli et al. (2017), изучавших гипотермическое хранение неразбавленной спермы стерляди в «классических» аэробных условиях, спустя трое суток активировались 30–40 % сперматозоидов, а через 6 суток хранения подвижных сперматозоидов не наблюдалось совсем [14]. Таким образом, результаты такого хранения непредсказуемы и компенсируются большим количеством образцов. Положительным в

таким подходе может быть то, что гипотермия в этом случае играет роль фактора отбора наиболее качественных образцов спермы.

Метод Бийяра — ДиЛауро. Büyükhacıoğlu и Holtz (1978) показали, что заполнение контейнеров с неразбавленной спермой радужной форели атмосферным воздухом или чистым кислородом способствует поддержанию оплодотворяющей способности в течение 9–15 суток хранения. Наилучшие результаты были достигнуты при хранении неразбавленной спермы форели в атмосфере чистого кислорода (80 % выклева после 15 дней хранения) и в воздухе (94,7 % после 9 дней хранения) при +4 °C. Анаэробные условия, разведение или повышение температуры менее благоприятно сказывались на результатах [18]. В 1981 г. Billard предложил использовать для гипотермического хранения и транспортировки спермы радужной форели пластиковые пакеты, заполненные чистым кислородом [15]. Выживаемость спермы и оплодотворяющая способность были достоверно выше после хранения в атмосфере чистого O₂ по сравнению с воздухом (18–21 % O₂). Простота этого способа сделала его впоследствии наиболее популярным и распространенным, позволяя сохранять сперму от нескольких часов после получения до нескольких недель. Оказалось, что таким способом можно хранить сперму не только лососевых рыб, но также карповых [32] и даже осетровых [35], сперма которых морфологически и физиологически отличается от костистых рыб. DiLauro et al. описывают хранение спермы атлантического осетра *Acipenser oxyrinchus* в пластиковых пакетах, заполненных кислородом, на льду. Кислород заменяли ежедневно. После хранения в течение 5 и 17 суток подвижность со-

храняли 99 % и 40 % сперматозоидов соответственно [19, 20].

В настоящее время этот метод рекомендован ФАО в качестве основного для гипотермического хранения спермы осетровых рыб. В техническом докладе ФАО № 558 по рыбному хозяйству «Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб» приведены инструкции по получению спермы осетровых рыб и ее хранению в гипотермических условиях, указаны сроки сохранения оплодотворяющей способности спермы в зависимости от длительности гипотермического хранения и исходного качества. Сперму помещают «... в сухие полиэтиленовые пакеты или другие сухие емкости, заполняемые смесью (кислород: воздух) 1:1, или, что несколько хуже, чистым кислородом, где сперма оптимально хранится при температуре 0...+0,5 °C, но не выше +3,0 °C тонким слоем (не более 0,5 см)» [8]. Одним из существенных недостатков этого метода является формирование конденсированной воды на стенках пакета, которая, соприкасаясь со спермой, формирует очаги преждевременной активации и последующей гибели. Кроме того, пакеты, заполненные газом, а также тара для них, заполненная льдом или хладагентом, занимают достаточно большой объем, что может затруднять транспортировку.

Метод Контэ: хранение в шприцах большого объема. Conte et al. (1988) предлагают хранить сперму при +4 °C в 10–60 мл шприцах, частично заполненных чистым кислородом, который следует заменять каждые 12 часов [22]. Этот компактный (что важно при транспортировке), технически более простой и удобный по сравнению с пластиковыми пакетами способ хранения осложняется необходимостью регулярной замены кислорода и зависит от его источника.

Хранение в разбавителе Пака — Чапмена. Нативную сперму разбавляют в 4 раза (1:3) раствором, представляющим собой фосфатно-солевой буфер (pH 7,3–7,5) с глюкозой или сахарозой и солями $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ K^{+} в физиологических концентрациях, осмоляльность ~100 мосмоль/кг [24]. Технически хранение разбавленной спермы осуществляется по методу Бийяра — ДиЛауро.

Хранение в бессолевых изотонических консервантах. Эта идея возникла как попытка экстраполяции успешных результатов применения бессолевых консервантов для гипотермического хранения спермы человека и мыши на осетровых рыб. В 1996 г. группа исследователей Университета Йокогамы предложила новый способ хранения спермы человека при +4 °C в бессолевом водном растворе глюкозы и бычьего сывороточного альбумина [32]. Консервирующая среда, названная авторами EFM (от англ. *electrolyte free medium*), позволяет сохранять сперму человека в жизнеспособном состоянии в течение как минимум двух недель [23, 29, 30, 32], что очевидно было существенным достижением. Наши предварительные исследования также показали, что после двух недель гипотермического хранения подвижность восстанавливают $52,0 \pm 3,6$ % сперматозоидов ($n = 35$), в то же время не установлено достоверного различия ($p = 0,11$; $n = 6$) между индексами фрагментации ДНК до и после хранения: $8,5 \pm 2,5$ и $11,2 \pm 3,1$ соответственно, что подтверждало безопасность метода [1]. В период с 2010 по 2013 г. методика в модифицированном варианте была применена нами в 96 программах лечения бесплодия при наличии добровольного письменного информированного согласия пациентов. Частота оплодотворения составила 78,0 %; 74,9 % эмбрионов развились

до стадии бластоцисты. В результате наступивших 26 беременностей родились 34 здоровых ребенка [2].

Существенным недостатком среды EFM является осмотический стресс, который клетки переживают в процессе консервации и ревитализации и который приводит к повреждению мембран сперматозоидов. Чтобы избежать этого, мы ввели в состав раствора трегалозу в качестве «осмотического буфера». Модифицированная среда была названа нами ISGT (*isotonic solution of glucose and trehalose*) [3]. При хранении эпидидимальных сперматозоидов лабораторных мышей (*Mus musculus*) в средах ISGT и EFM было установлено, что добавление трегалозы снижает относительное количество сперматозоидов с поврежденными мембранами после 14 суток хранения ($1,4 \pm 0,4\%$ и $8,2 \pm 1,2\%$ соответственно, $p = 0,00$, $n = 16$). В то же время для обоих консервантов не установлены различия по способности сперматозоидов восстанавливать подвижность после хранения ($p = 0,57$, $n = 16$), а также по фрагментации ДНК ($p = 0,69$, $n = 12$) [3].

Однако первые попытки применения нами сред EFM и ISGT с осмоляльностью ~320 мосмоль/кг для гипотермического хранения спермы осетровых рыб вместо желаемого результата привели к неудаче — быстрой и необратимой утрате способности к активации. Это обусловлено особенностями строения и физиологии мужской уrogenитальной системы осетровых рыб, являющимися причиной значительно более низкой осмоляльности семенной плазмы по сравнению с плазмой крови. Учитывая эти особенности, нами было установлено эмпирически, что наилучшая сохранность спермы осетровых рыб разных видов достигается в бессолевых растворах, близких по осмоляльности к семенной плаз-

ме [4]. В 2012–2016 гг. нами была разработана среда ISGT-80 с осмоляльностью, сходной с семенной плазмой стерляди. Стерлядь (*Acipenser ruthenus*) была выбрана на том основании, что осмоляльность ее семенной плазмы крайне низкая даже для осетровых рыб — ~50–70 мосмоль/кг [5, 26, 28]. После хранения в ISGT-80 при +2...+4 °C спермы стерляди в течение 6 суток подвижными после активации становились не менее 50% сперматозоидов. Доля сперматозоидов с поврежденной ДНК после 6 суток хранения не превышала 1,5%, а сперматозоидов с поврежденными мембранами была не более 10% [5]. При осеменении икры стерляди спермой, хранившейся 10 суток в ISGT-80, частота оплодотворения составила не менее 90% [6]. Аналогичный подход был применен нами для разработки экспериментальных растворов для гипотермического хранения спермы сибирского осетра (ISGT-105) и севрюги (ISGT-150).

Заключение

Несмотря на отдельные экспериментальные достижения и прорывы, в настоящее время технологии гипотермического хранения всё еще недостаточно распространены в отечественном осетроводстве. Еще долгое время будут оставаться открытыми наиболее острые вопросы в отношении гипотермического хранения спермы: (1) длительность хранения, (2) стандартизация методов, т.е. фактически предсказуемый уровень воспроизводимости, и (3) генетическая стабильность в результате применения технологий гипотермического хранения, от которой зависит развитие после оплодотворения и в конечном счете — рыбоводная продукция. Тем не менее, хотя и эпизодические, но не прекращающиеся исследования как в России, так и за рубежом свидетельствуют о востребованности в осетроводстве эффективных технологий гипотермического хранения спермы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

Financing. The study had no sponsorship.

Библиографический список

1. Исаев, Д.А. Хранение спермы человека в течение 2 недель без замораживания / Д.А. Исаев, В.В. Заева, Р.В. Бакурадзе и др. // Проблемы репродукции. — 2009. — Т. 5. — С. 33–35.
2. Исаев, Д.А. Каткосрочное хранение спермы без замораживания в программах ЭКО/ИКСИ / Д.А. Исаев, Е.Е. Захарова, И.В. Капралова и др. // Проблемы репродукции. — 2015. — Т. 4. — С. 65–70.
3. Исаев, Д.А. Влияние трегалозы на сохранность мембран, подвижность и фрагментацию хроматина эпидидимальных сперматозоидов мышей при гипотермическом хранении в безэлектролитных средах / Д.А. Исаев, М.Ю. Мартынова, И.В. Володяев, А.О. Ревякин // Биомедицина. — 2015. — № 4. — С. 69–76.
4. Исаев, Д.А. Гипотермическое хранение спермы осетровых рыб в изотонических растворах / Д.А. Исаев, М.Ю. Мартынова, Е.И. Шишанова и др. // Рыбоводство и рыбное хозяйство. — 2013. — № 10. — С. 41–49.
5. Исаев, Д.А. Подвижность, сохранность мембран и фрагментация ДНК в сперме стерляди при гипотермическом хранении в безэлектролитном растворе глюкозы и трегалозы /

- Д.А. Исаев, Е.И. Шишанова, Д.А. Кавтаров, А.П. Глебов // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. — 2016. — № 3. — С. 100–108.
6. Исаев, Д.А. Гипотермическое хранение спермы позвоночных в бессолевых изотонических растворах / Д.А. Исаев, М.Ю. Мартынова, И.В. Володяев, Е.И. Шишанова // Сборник трудов Международной научной конференции «Современные достижения и проблемы генетики и биотехнологии в животноводстве, посвященной 90-летию академика Л.К. Эрнста». — Дубровицы: ВИЖ, 2019. — С. 79–82.
7. Персов, Г.М. Некоторые данные по выживаемости спермиев севрюги (*Acipenser stellatus*) / Г.М. Персов // Доклады АН СССР. — 1941. — Т. 33, № 4. — С. 327–329.
8. Чебанов, М.С. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб. Технический доклад ФАО по рыбному хозяйству № 558 / М.С. Чебанов, Е.В. Галич: ФАО, Анкара, 2013. — 325 с.
9. Гримм, О.А. Рыбоводство / О.А. Гримм — М., Л.: Сельхозгиз, 1931. — 262 с.
10. Привезенцев, Ю.А. Рыбоводство / Ю.А. Привезенцев, В.А. Власов. — М.: Мир, 2004. — 456 с.
11. Максудов, Г.Ю. Физиологическая консервация спермы позвоночных / Г.Ю. Максудов, В.А. Артюшкова — Научный центр биотехнологических исследований АН СССР, Пущино, 1989. — 73 с.
12. Безрукова, А.П. Химический анабиоз. Бессмертие / А.П. Безрукова — М.: Стоматол. науч. центр : АСТ, 2003. — 214 с.
13. Шмидтов, А.И. О выживаемости спермы осетровых рыб при различных условиях внешней среды / А.И. Шмидтов // Доклады АН СССР. — 1936. — Т. 3, № 3. — С. 89–91.
14. Aramli, M.S. Motility parameters, adenosine triphosphate content and oxidative stress indices of sterlet, *Acipenser ruthenus* sperm after 6 days of storage / M.S. Aramli, H. Azarin, P. Farsi // Aquaculture Research. — 2017. — V. 48, № 2. — P. 719–724.
15. Billard, R. Short-term preservation of sperm under oxygen atmosphere in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) / R. Billard // Aquaculture. — 1981. — V. 23, № 1. — P. 287–293.
16. Blaxter, J.H.S. Sperm Storage and Cross-Fertilization of Spring and Autumn Spawning Herring / J.H.S. Blaxter // Nature. — 1953. — V. 172, № 4391. — P. 1189–1190.
17. Butcher, A.D. Preliminary observation on the storage of the milt of trout / A.D. Butcher // Australia J. Sci. — 1944. — V. 7. — P. 23–25.
18. Büyükhatipoglu, S. Preservation of trout sperm in liquid or frozen state / S. Büyükhatipoglu, W. Holtz // Aquaculture. — 1978. — V. 14. — P. 49–56.
19. DiLauro, M.N. Short-term cold storage of Atlantic sturgeon sperm / M.N. DiLauro, W.F. Krise, M.A. Hendrix, S.E. Baker // Sturgeon Quarterly. — 1995. — V. 3, № 2. — P. 6–8.
20. DiLauro, M.N. Technical Notes: Short-Term Cold Storage of Atlantic Sturgeon Sperm / M.N. DiLauro, W.F. Krise, M.A. Hendrix, S.E. Baker // The Progressive Fish-Culturist. — 1994. — V. 56, № 2. — P. 143–144.
21. Foote, R.H. The history of artificial insemination: Selected notes and notables / R.H. Foote // J Anim Sci. — 2002. — V. 80. — P. 1–10.
22. Conte, F.S. Hatchery manual for the white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson) : with application to other North American Acipenseridae. / F.S. Conte — Oakland, Calif.: Division of Agriculture and Natural Resources, University of California, 1988. — 104 p.
23. Kanno, H. Viability and function of human sperm in electrolyte-free cold preservation / H. Kanno, K. Saito, T. Ogawa et al. // Fertility and Sterility. — 1998. — V. 69, № 1. — P. 127–131.
24. Park, C. An Extender Solution for the Short-Term Storage of Sturgeon Semen / C. Park, F.A. Chapman // North American Journal of Aquaculture. — 2005. — V. 67, № 1. — P. 52–57.
25. Phillips, P.H. A Yolk-Buffer Pabulum for the Preservation of Bull Semen / P.H. Phillips, H.A. Lardy // Journal of Dairy Science. — 1940. — V. 23, № 5. — P. 399–404.

26. Piros, B. Biochemical characterization of Siberian sturgeon *Acipenser baeri* and sterlet *Acipenser ruthenus* milt plasma and spermatozoa / B. Piros, J. Glogowski, R. Kolman et al. // *Fish Physiology and Biochemistry*. — 2002. — V. 26, № 3. — P. 289–295.
27. Polge, C. Revival of Spermatozoa after Vitrification and Dehydration at Low Temperatures / C. Polge, A.U. Smith, A.S. Parkes // *Nature*. — 1949. — V. 164, № 4172. — P. 666.
28. Psenicka, M. A comparative study on biological aspect of sperm in sterlet and Siberian sturgeon / M. Psenicka, S.M.H. Alavi, M. Rodina et al. // *Cybiu*. — 2008. — V. 32, № 2 suppl. — P. 179–180.
29. Riel, J.M. Freezing-free preservation of human spermatozoa: a pilot study / J.M. Riel, T.T.F. Huang, M.A. Ward // *Fertility and Sterility*. — 2007. — V. 88. — P. S89–S90.
30. Riel, J.M. Short-Term Storage of Human Spermatozoa in Electrolyte-Free Medium Without Freezing Maintains Sperm Chromatin Integrity Better Than Cryopreservation / J.M. Riel, Y. Yamauchi, T.T.F. Huang et al. // *Biology of Reproduction*. — 2011. — V. 85, № 3. — P. 536–547.
31. Saad, A. Short-term preservation of carp (*Cyprinus carpio*) semen / A. Saad, R. Billard, M.C. Theron, M.G. Hollebecq // *Aquaculture* (Amsterdam). — 1988. — V. 71, № 1–2. — P. 133–150.
32. Saito, K. A new method of the electrolyte-free long-term preservation of human sperm at 4°C / K. Saito, Y. Kinoshita, H. Kanno et al. // *Fertility and Sterility*. — 1996. — V. 65, № 6. — P. 1210–1213.
33. Salisbury, G.W. Preservation of Bovine Spermatozoa in Yolk-Citrate Diluent and Field Results from its Use / G.W. Salisbury, H.K. Fuller, E.L. Willett // *Journal of Dairy Science*. — 1941. — V. 24, № 11. — P. 905–910.
34. Smith, R.T. Experiments with the Spermatozoa of the Steelhead Trout, *Salmo gairdnerii gairdnerii*, and the Chinook Salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* / R.T. Smith, E. Quistorff // *Copeia*. — 1943. — V. 1943, № 3. — P. 164–167.
35. Detlaf, T.A. Sturgeon fishes : developmental biology and aquaculture / T.A. Detlaf, A.S. Ginzburg, O.I. Shmal'gauzen — Berlin; New York: Springer-Verlag, 1993. — 300 p.
36. Spallanzani, L. Tracts on the natural history of animals and vegetables / L. Spallanzani — Edinburgh: Printed for W. Creech and A. Constable [etc., etc.]. — 1803. — 2d ed. — Translated from Italian. — Volume 2. — 456 p.

References

1. Isaev, D.A. Fortnight storage of human sperm without freezing / D.A. Isaev, V.V. Zaeva, R.V. Baku-radze et al. // *Russian Journal of Human Reproduction = Problemy reproduksii*. — 2009. — V. 5. — P. 33–35. (In Russ.)
2. Isaev, D.A. Short-term liquid sperm storage in IVF/ICSI cycles / D.A. Isaev, E.E. Zakharova, I.V. Kapralova et al. // *Russian Journal of Human Reproduction = Problemy reproduksii*. — 2015. — V. 4. — P. 65–70. (In Russ.)
3. Isaev, D.A. Effect of trehalose on the safety membrane, motility and epididymal sperm chromatin fragmentation mice during hypothermic storage in electrolyte-free buffer / D.A. Isaev, M.Yu. Martynova, I.V. Volodyaev, A.O. Revyakin // *Biomedicine*. — 2015. — V.1, № 4. — P. 69–76. (In Russ.)
4. Isaev, D.A. Hypothermic storage of sturgeon fish milt in isotonic extenders / D.A. Isaev, M.Yu. Martynova, E.I. Shishanova et al. // *Fish Breeding and Fisheries*. — 2013. — № 10. — P. 41–49. (In Russ.)
5. Isaev, D.A. Motility, membrane integrity and DNA fragmentation in sterlet sperm during hypothermic storage in electrolyte-free solution of glucose and trehalose / D.A. Isaev, E.I. Shishanova, D.A. Kavtarov, A.P. Glebov // *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry* — 2016. — № 3. — P. 100–108. (In Russ.)
6. Isaev, D.A. Hypothermic storage of sperm in vertebrates using salt-free isotonic solutions / D.A. Isaev, M.Yu. Martynova, I.V. Volodyaev, E.I. Shishanova // *Proceedings of the International Scientific Conference «Modern Achievements and Problems of Genetics and Biotechnology in Livestock, dedicated to the 90th anniversary of Academician L.K. Ernst»*. Dubrovitsy : VIZh, 2019. — P. 79–82. (In Russ.)

7. Persov, G.M. Some data about survival of the stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) spermatozoa / G.M. Persov // Dokl Akad Nauk SSSR. — 1941. — V. 33, № 4. — P. 327–329. (In Russ.)
8. Chebanov, M.S. Sturgeon Hatchery Manual. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper № 558 / M.S. Chebanov, E.V. Galich: FAO, Ankara, 2013. — 325 p.
9. Grimm, O.A. Rybovodstvo [Fish Farming] / O.A. Grimm — Moscow, Leningrad : Selkhozgiz, 1931. — 262 p. (In Russ.)
10. Privezentsev, Yu.A. Rybovodstvo [Fish Farming] / Yu.A. Privezentsev, V.A. Vlasov — Moscow : Mir Publ., 2004. — 456 p. (In Russ.)
11. Aramli, M.S. Motility parameters, adenosine triphosphate content and oxidative stress indices of sterlet, *Acipenser ruthenus* sperm after 6 days of storage / M.S. Aramli, H. Azarin, P. Farsi // Aquaculture Research. — 2017. — V. 48, № 2. — P. 719–724.
12. Billard, R. Short-term preservation of sperm under oxygen atmosphere in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) / R. Billard // Aquaculture. — 1981. — V. 23, № 1. — P. 287–293.
13. Blaxter, J.H.S. Sperm Storage and Cross-Fertilization of Spring and Autumn Spawning Herring / J.H.S. Blaxter // Nature. — 1953. — V. 172, № 4391. — P. 1189–1190.
14. Butcher, A.D. Preliminary observation on the storage of the milt of trout / A.D. Butcher // Australia J. Sci. — 1944. — V. 7. — P. 23–25.
15. Büyükhatipoglu, S. Preservation of trout sperm in liquid or frozen state / S. Büyükhatipoglu, W. Holtz // Aquaculture. — 1978. — V. 14. — P. 49–56.
16. DiLauro, M.N. Short-term cold storage of Atlantic sturgeon sperm / M.N. DiLauro, W.F. Krise, M.A. Hendrix, S.E. Baker // Sturgeon Quarterly. — 1995. — V. 3, № 2. — P. 6–8.
17. DiLauro, M.N. Technical Notes: Short-Term Cold Storage of Atlantic Sturgeon Sperm / M.N. DiLauro, W.F. Krise, M.A. Hendrix, S.E. Baker // The Progressive Fish-Culturist. — 1994. — V. 56, № 2. — P. 143–144.
18. Foote, R.H. The history of artificial insemination: Selected notes and notables / R.H. Foote // J Anim Sci. — 2002. — V. 80. — P. 1–10.
19. Conte, F.S. Hatchery manual for the white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson) : with application to other North American Acipenseridae. / F.S. Conte — Oakland, Calif.: Division of Agriculture and Natural Resources, University of California, 1988. — 104 p.
20. Kanno, H. Viability and function of human sperm in electrolyte-free cold preservation / H. Kanno, K. Saito, T. Ogawa et al. // Fertility and Sterility. — 1998. — V. 69, № 1. — P. 127–131.
21. Park, C. An Extender Solution for the Short-Term Storage of Sturgeon Semen / C. Park, F.A. Chapman // North American Journal of Aquaculture. — 2005. — V. 67, № 1. — P. 52–57.
22. Phillips, P.H. A Yolk-Buffer Pabulum for the Preservation of Bull Semen / P.H. Phillips, H.A. Lardy // Journal of Dairy Science. — 1940. — V. 23, № 5. — P. 399–404.
23. Piros, B. Biochemical characterization of Siberian sturgeon *Acipenser baeri* and sterlet *Acipenser ruthenus* milt plasma and spermatozoa / B. Piros, J. Glogowski, R. Kolman et al. // Fish Physiology and Biochemistry. — 2002. — V. 26, № 3. — P. 289–295.
24. Polge, C. Revival of Spermatozoa after Vitrification and Dehydration at Low Temperatures / C. Polge, A.U. Smith, A.S. Parkes // Nature. — 1949. — V. 164, № 4172. — P. 666.
25. Psenicka, M. A comparative study on biological aspect of sperm in sterlet and Siberian sturgeon / M. Psenicka, S.M.H. Alavi, M. Rodina et al. // Cybium. — 2008. — V. 32, № 2 suppl. — P. 179–180.
26. Riel, J.M. Freezing-free preservation of human spermatozoa: a pilot study / J.M. Riel, T.T.F. Huang, M.A. Ward // Fertility and Sterility. — 2007. — V. 88. — P. S89–S90.
27. Riel, J.M. Short-Term Storage of Human Spermatozoa in Electrolyte-Free Medium Without Freezing Maintains Sperm Chromatin Integrity Better Than Cryopreservation / J.M. Riel, Y. Yamauchi, T.T.F. Huang et al. // Biology of Reproduction. — 2011. — V. 85, № 3. — P. 536–547.
28. Saad, A. Short-term preservation of carp (*Cyprinus carpio*) semen / A. Saad, R. Billard, M.C. Theron, M.G. Hollebecq // Aquaculture (Amsterdam). — 1988. — V. 71, № 1–2. — P. 133–150.

29. Saito, K. A new method of the electrolyte-free long-term preservation of human sperm at 4°C / K. Saito, Y. Kinoshita, H. Kanno et al. // Fertility and Sterility. — 1996. — V. 65, № 6. — P. 1210–1213.
30. Salisbury, G.W. Preservation of Bovine Spermatozoa in Yolk-Citrate Diluent and Field Results from its Use / G.W. Salisbury, H.K. Fuller, E.L. Willett // Journal of Dairy Science. — 1941. — V. 24, № 11. — P. 905–910.
31. Smith, R.T. Experiments with the Spermatozoa of the Steelhead Trout, *Salmo gairdnerii gairdnerii*, and the Chinook Salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* / R.T. Smith, E. Quistorff // Copeia. — 1943. — V. 1943, № 3. — P. 164–167.
32. Detlaf, T.A. Sturgeon fishes : developmental biology and aquaculture / T.A. Detlaf, A.S. Ginzburg, O.I. Shmal'gauzen — Berlin; New York: Springer-Verlag, 1993. — 300 p.
33. Spallanzani, L. Tracts on the natural history of animals and vegetables / L. Spallanzani — Edinburgh: Printed for W. Creech and A. Constable [etc., etc.]. — 1803. — 2d ed. — Translated from Italian. — Volume 2. — 456 p.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Дмитрий Александрович Исаев — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт интегрированного рыбоводства — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»; <http://orcid.org/0000-0001-6706-8606>; 142460, Московская область, Ногинский р-н, пос. им. Воровского, ул. Сергеева, д. 24; +7 (903) 269 4476; E-mail: dmais@hotmail.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Dmitry Alexandrovich Isaev, Cand. Biol. Sciences, senior researcher, All-Russian research Institute of integrated fish farming-branch Of the Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst. <http://orcid.org/0000-0001-6706-8606>. Contact address: 142460, Moscow region, Noginsk district, Vorovsky settlement, Sergeyev str., 24. Mobile phone +7 (903) 269 44 76. E-mail: dmais@hotmail.ru

ГЛАВНЫЙ ИНЖЕНЕР

УПРАВЛЕНИЕ
ПРОМЫШЛЕННЫМ
ПРОИЗВОДСТВОМ



На правах рекламы

подписные индексы



82715



П7311

ЭФФЕКТИВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВОМ

<http://panor.ru/ge>

В каждом номере: материалы, необходимые для повседневной деятельности технического руководства промпредприятий; антикризисное управление производством; поиск и получение заказов; организация производственного процесса; принципы планирования производства.

Наши эксперты и авторы: **Афанасьев Ф.И.**, главный инженер Стерлитамакского ОАО «Каустик»; **Луценко А.Н.**, техн. директор Череповецкого металлургического комбината ОАО «Северсталь», канд. техн. наук; **Цепилов А.В.**, техн. директор ОАО «Завод «Красное Сормово»; **Воробей С.А.**, главный инженер Гурьевского метзавода; **Гапанович В.А.**, вице-президент, главный инженер ОАО «РЖД»; **Томарев Г.И.**, главный инженер Волгоградского металлургического завода «Красный Октябрь»; **Гребенщиков А.А.**, главный инженер Воронежского механического завода; **Викалюк А.Д.**, техн. директор Копейского машиностроительного завода; **Немцов И.Ю.**, главный инженер компании «Термопол-Москва», другие ве-

дущие специалисты и топ-менеджеры промышленных предприятий, а также технические специалисты ассоциаций и объединений, промышленных предприятий, ученые, специалисты в области управления производством.

Издается при информационной поддержке Российской инженерной академии и Союза машиностроителей.

Ежемесячное издание.

Распространяется по подписке и на отраслевых мероприятиях.

ОСНОВНЫЕ РУБРИКИ

- Управление производством
- Антикризисный менеджмент
- Реконструкция и модернизация производства
- Передовой опыт
- Новая техника и оборудование
- Инновационный климат
- Стандартизация и сертификация
- IT-технологии
- Промышленная безопасность и охрана труда