

Сәкен Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университетінің Ғылым жаршысы (пәнаралық) =Вестник науки Казахского агротехнического исследовательского университета имени Саке-на Сейфуллина (междисциплинарный). – Астана: С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, 2023. -№ 3 (118). - Б.204-214. - ISSN 2710-3757, ISSN 2079-939X

doi.org/ 10.51452/kazatu.2023.3 (118).1509

ӘОЖ 575: 639.2/.3

## АҚ ДӨҢМАҢДАЙДЫҢ (HYPORHYNALMICHTHYS MOLITRIX) ШӘУЕТТЕРІН ӘРТҮРЛІ КРИОПРОТЕКТОРЛАРМЕН КРИОКОНСЕРВАЦИЯЛАУ

*Асылбекова Айнура Серикбаевна*

*Ауыл шаруашылығы ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор*

*С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті*

*Астана қ., Қазақстан*

*E-mail: family-05@mail.ru*

*Баринова Гулназ Калдыбаевна*

*Биология ғылымдарының кандидаты*

*С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті*

*Астана қ., Қазақстан*

*E-mail: gul\_b83@mail.ru*

*Аубакирова Гульжан Аманжоловна*

*PhD, қауымдастырылған профессор*

*С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті*

*Астана қ., Қазақстан*

*E-mail: gulzhikk@bk.ru*

*Куанчалева Жаксығали Батыргалеевич*

*Ауыл шаруашылығы ғылымдарының магистрі*

*С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті*

*Астана қ., Қазақстан*

*E-mail: ihtiojakh@mail.ru*

*Мусина Айнура Даниаровна*

*2 курс докторант*

*Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті*

*Алматы қ., Қазақстан*

*E-mail: ms.ikrambaeva@mail.ru*

### Түйін

Мақалада ақ дөңмаңдайдың шәуеттерін әртүрлі криопротекторларды қолдана отырып криоконсервациялау қарастырылды. Балықтардың репродуктивті жасушаларын криоконсервациялау генетикалық биоалуантүрлілікті сақтау, сондай-ақ балық шаруашылығы мен аквакультураны дамыту стратегиясының өзекті бағыты болып табылады. Криоконсервация процесінде екі криопротекторлық ерітінді бар компоненттер қолданылды: 1) 60 mM NaCl, 3 mM сахароза, этиленгликоль 5% және метанол 22%; 2) 110 mM NaCl, 240 mM KCl, 3,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 4,3 mM NaHCO<sub>3</sub> және 18% ДМСО. Зерттеу нәтижелері бойынша ақ дөңмаңдайдың нативті шәуеттерінің сапасы орта есеппен 97,2±1,04% құрады. Эквилибрациядан кейін №1 ерітіндіде шәуеттердің қозғалғыштығы 85,2%, ал №2 ерітіндіде 87,4% құрады. Алынған нәтижелер бойынша №2 ерітінді (ДМСО 18%) тиімді болып табылды. Бұл ерітіндіні қолданған кезде ақ дөңмаңдайдың шәуеттерін белсендірілгеннен кейін 10 секундта сперматозоидтардың қозғалғыштығы 19%, ал бір

минут ішінде 10,4% құрады. Метанол мен этиленгликоль негізіндегі №1 ерітіндіні пайдаланған кезде сперматозоидтардың орташа қозғалғыштығы 10 секундта 10% және бір минут ішінде орташа қозғалғыштығы 6% құрады. Екі ерітінді бойынша сперматозоидтардың мұздату жылдамдығы шамамен бірдей жылдамдыққа ие болды.

**Кілт сөздер:** ақ дөңмандай; криоконсервация; криопротектор; шәует; сперматозоид; эквипирация; ерітінді.

### Кіріспе

Қазіргі уақытта ең маңызды мәселелердің бірі сирек кездесетін және жойылып бара жатқан популяциялар мен балық түрлерінің генфондын сақтау болып отыр. Балықтардың жекелеген популяцияларының санын сақтау және толықтыру үшін әртүрлі балық өсіру шаруашылықтарда жасанды көбею биотехнологиялары жасалады [1, 2].

Қазіргі уақытта әлемдік зерттеу тәжірибесінде мұздатылған балық сперматозоидтарын сақтау және пайдалану жұмыстары кеңінен жүргізілуде [3-5]. Соңғы онжылдықтарда балық сперматозоидтарын криоконсервациялау процедураларының ерекшелігі туралы ғылыми білім айтарлықтай толықтырылды [6-9]. Әртүрлі балықтардың 250-ден астам түрінің сперматозоидтарын криоконсервациялау әдістері жасалды [10-16]. Бұл негізінен бахта, тұқы, ақсаха (Норвегия, Франция, Түркия, Америка, Жапония) сияқты

### Материалдар мен әдістер

Ақ дөңмандайдың (*Hypophthalmichthys molitrix*) шәуеттеріне криоконсервациялауды зерттеу бойынша ғылыми зерттеулер көбею кезінде «Сандель» ҚШ балық өсіру зауытында (Жамбыл облысы, Тараз қ.) дайындалған аталықтарына жүргізілді.

Ынталандырылған аталықтардан алынған сперматозоидтардың сапасын бағалау микроскоптың көмегімен сперматозоидтардың қозғалғыштығын анықтау арқылы жүргізілді. Шәуеттердің сапасы Персова шкаласы бойынша анықталды, олардың нәтижелері бойынша белсенділігі 4 және 5 балл болатын сынамалар алынды. Шәуеттер сыртқы түрі, түсі мен консистенциясы бойынша бағаланды. Өмір сүру уақыты секундомердің көмегімен орнатылды.

Криоконсервация келесі схема бойынша жүргізілді: шәуеттерді криопротекторлық ортамен сұйылту, эквипирация, мұздату, дефростинг. Криоконсервация процесінде келесі компоненттері бар екі криопротекторлық ерітінді қолданылды: 1) 60 mM NaCl, 3 mM сахароза, 5% этиленгликоль және 22% метанол;

балықтардың гетерогенділігін сақтау үшін аквакультурада сәтті қолданылатын шетелдік әзірлемелер [17,18].

Алайда, Қазақстанда жасанды көбеюде балықтардың репродуктивті жасушаларын криоконсервациялау әдістерін қолдану дамымаған.

Осылайша, балықтардың репродуктивті жасушаларын криоконсервациялау генетикалық биоалуантүрлілікті сақтау, сондай-ақ балық шаруашылығы мен аквакультураны дамыту стратегиясының өзекті бағыты болып табылады. Осыған сүйене отырып, осы саладағы зерттеулер өзекті болып табылады және мұқият зерттеуді қажет етеді.

Зерттеудің мақсаты: ақ дөңмандайдың (*Hypophthalmichthys molitrix*) шәуеттерін әртүрлі криопротекторларды қолдану кезіндегі сапасын бағалау.

2) 110 mM NaCl, 240 mM KCl, 3,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 4,3 mM NaHCO<sub>3</sub> және 18% ДМСО.

Бағалаудан кейін таңдалған шәуеттерді жеке пластикалық ыдыстарда 15-20 минут ішінде 10-12 0C температураға дейін салқындату үшін тоңазытқышқа орналастырылды. Температураны теңестіргеннен кейін шәуеттерді 1:1 көлемінде сол температураға дейін салқындатылған криопротекторлық ортамен сұйылтылды.

Алынған суспензия шәует-криопротекторлық орта мөлшерлі тамызғыштың көмегімен 0,2 мл түтікшеге құйылды. Бұл жұмыс салқындатылған бегінде жүргізілді. Құйылған сәттен бастап мұздатуға дейінгі уақыт 15 минуттан аспады, бұл эквипирация процесін құрады.

Әрі қарай, мұздатылған материал азот буында 15 минут бойы 33,5x21 см, биіктігі 26 см сыртқы және 20 см болатын арнайы пенопластан жасалған қорапта ұсталды, оның үстіне қалыңдығы 4 см көлемі 14,5x14,3 см болатын пенопласты салға орнатылды. Тем-

ператураны бақылау үшін түтіктердің біріне төмен температуралы термометрден сымды сенсор қойылды. Криобиркалары бар сал 15 минут бойы сақталды, содан кейін барлық криобиркаларды-1960С температурада ұзақ сақтау үшін Дьюар ыдысына ауыстырды. Криобиркаларды тазартылған суда 400С температурада 6 секунд бойы, су моншасының көмегімен жібітілді.

Дефростирленген шәуеттердің параметрлері «Республикалық мал шаруашылығын асылдандыру орталығы «Асыл түлік»» акционерлік қоғамы зертханасында зерттелді. Шәуеттердің қозғалғыштығы мен өмір сүру уақыты CASA

### Нәтижелер

Зерттеу жұмыстары көбейту үшін дайындалған аталықтарға жүргізілді. Пісіп жетілген сатысындағы 5 аталық таңдалды. Жаңадан алынған шәуеттердің сапасын бағалағаннан кейін Персова шкаласы бойынша барлық аталықтарда 5 балл көрсетті. Әр аталықтан 5 мл шәует алынды. Әрбір аталықтың шәуеті талдау нәтижелеріне сүйене

компьютерлік технологиясының (IMV-technologies, Франция) жүйесі CEROS бағдарламалық қамтамасыздандырылған камерамен тринокулярлық микроскоптың астындағы бейне қорапты пайдаланып дербес компьютер мониторында тіркелді. Шәуеттер судың көмегімен 1:300 қатынасында белсендірілді.

Статистикалық өңдеу Г.Ф. Лакиннің басшылығымен [19] және ДК-де «Excel» бағдарламасын қолдана отырып жүргізілді [20]. Нәтижелер орташа мән (M)± мен стандартты ауытқу (M) ретінде көрсетілді.

отырып, ең қолайлы ерітіндіні анықтау үшін екі түрлі криопротекторларды қолдану арқылы бөлініп, мұздатылды.

Ақ дөңмаңдайдың шәуеттерінің криоконсервациясын зерттеу кезінде нативті және эквиграция мен дефростациядан кейін шәуеттердің сапа көрсеткіштері анықталды (1-кесте).

1-кесте – Ақ дөңмаңдайдың шәуетінің мұздатылғанға дейінгі сапасы

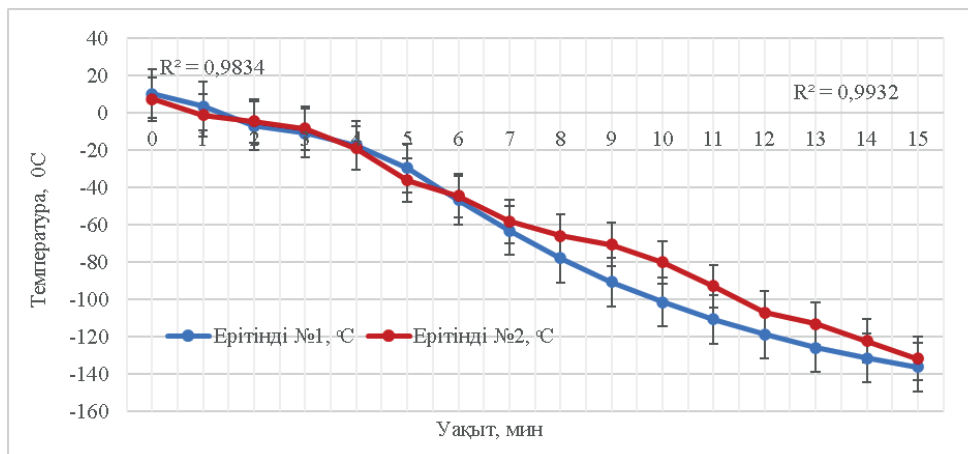
№ балық	нативті шәуеттің қозғалғыштығы, %	Эквилибрациядан кейінгі шәуеттердің қозғалғыштығы 1 ерітінді, %	Эквилибрациядан кейінгі шәуеттердің қозғалғыштығы 2 ерітінді, %
1	97,2±1,04	84,2±0,64	87,2±1,84
2		85,6±1,28	87,0±1,60
3		85,0±0,80	87,8±1,44
4		85,8±1,44	87,7±1,05
5		85,4±0,88	87,3±1,88

Ескерту: №1 60 mM NaCl, 3 mM сахароза, 5% этиленгликоль және 22% метанол; №2 110 mM NaCl, 240 mM KCl, 3,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 4,3 mM NaHCO<sub>3</sub> және 18% ДМСО.

Барлық аталықтардың шәуеттерінің сапасы өте жақсы, бірақ нативті шәуеттердің эквиграциясындағы ерітінділер арасында айырмашылық болды. 1-ші кестеде келтірілген мәліметтерге сүйене отырып ақ дөңмаңдайдың нативті шәуетінің орташа қозғалғыштығы 97,2±1,04 % құрады, ал эквиграциядан кейін бірінші ерітіндіде ең төменгі көрсеткіштер №1 аталықта 84,2±0,64%, орташа мәні 85,2% аралығында ауытқыды. Екінші ерітіндіге келетін болсақ, эквиграциядан кейінгі шәуеттердің қозғалғыштығының орташа

мәні 87,4% құрады, ең төменгі көрсеткіш №2 аталықта байқалды.

Ақ дөңмаңдайдың шәуетін мұздату жылдамдығы төмен температуралы датчиктің көмегімен арнайы қорапта зерттелді. Салда орнатылған түтікшелер бокста 15 минут ұсталды, содан кейін барлық түтікшелер -1960С температурада ұзақ сақтау үшін Дьюар ыдысына ауыстырылды. Ақ дөңмаңдайдың шәуеттерін мұздату жылдамдығы 1-ші суретте көрсетілген.



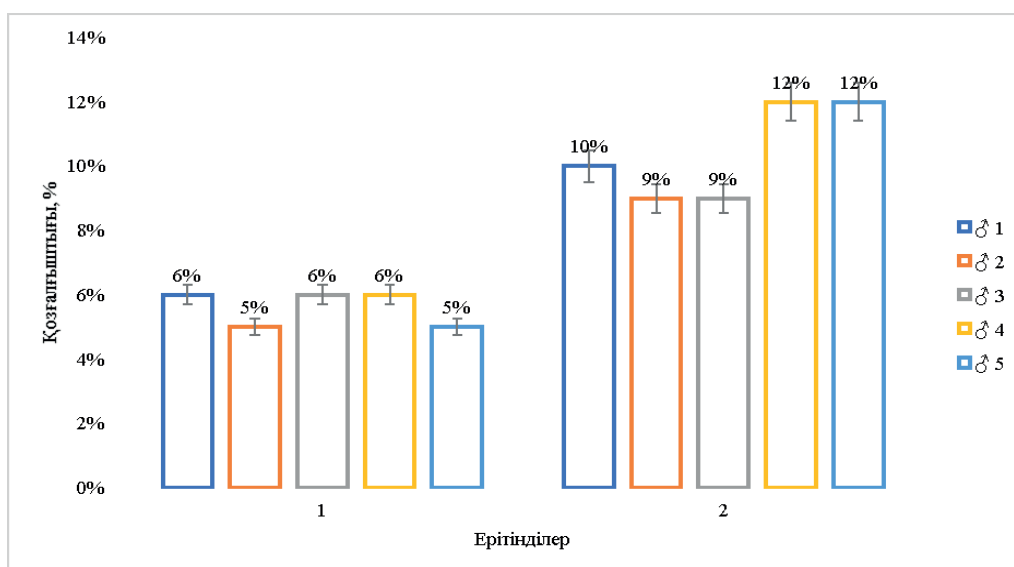
1-сурет – Ақ дөңмаңдайдың шәуеттерін мұздату жылдамдығы

Ақ дөңмаңдайдың шәуеттері екі әртүрлі криоеріткіштермен мұздатылды. Екі ерітінді бойынша шәуеттердің жалпы мұздату жылдамдығы 5 минутқа дейін 7-8°C/мин, 6 минуттан 10 минутқа дейін 10-17°C/мин, 11-ден 15 минутқа дейін 5-10°C/мин болды. Мұздату алдындағы бастапқы температура: бірінші ерітіндіде 10,2°C, ал екіншісінде 7,4°C. Екі түрлі криоерітінділерінің мұздату жылдамдығы 7 минутқа дейін ұқсас, 7 минуттан бастап 14 минутқа дейін олардың көрсеткіштері 10-нан 20 бірлікке дейін өзгерді. Мұздатудың 15 минутына дейінгі температура бірінші ерітіндіде -136,4 °C, екінші ерітіндіде - 131,9 °C болды. Бірінші ерітіндідегі  $R^2 = 0,9834$ , ал екінші ерітіндіде  $R^2 = 0,9932$ .

Ақ дөңмаңдайдың шәуеттерін жібіту

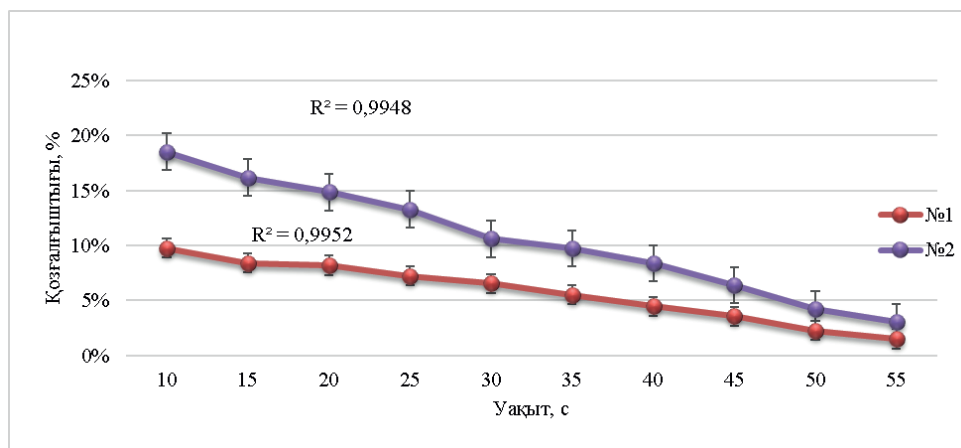
сулы жылытқышта 40°C температурада 6 секунд ішінде жүргізілді. Үлгілер (еріген) 4-10°C жоғары емес температурада 2-3 сағат ішінде зерттелді. Дефростирленген үлгілерде бір минут ішінде қозғалғыш шәуеттердің саны анықталды, санау 10 секундтан 55 секунд аралығында жүрді. Шәуеттер белсендіріліп, үлгілер микроскоптың астында орналастырылған кезде шамамен 6-9 секунд уақыт қажет болғандықтан, талдау 10-шы секундтан басталды.

Екі ерітінді арасындағы барлық аталықтардың шәуеттерінің қозғалғыштығының орташа мәндері мен стандартты ауытқуы 2-суретте көрсетілген. Сондай-ақ, 3-суретте көрсетілгендей ерітінділер арасында айырмашылық бар.



2-сурет – Екі ерітінді арасындағы барлық аталықтардың шәуеттерінің қозғалғыштығының орташа көрсеткіштері

Бірінші ерітіндіде аталық шәуеттерінің орташа қозғалғыштығы: 60 mM NaCl, 3 mM сахароза, этиленгликоль 5% және метанол 22% бір-біріне қарамастан айқын айырмашылықтарсыз 5-6% аралығында ауытқыды, бұл екінші ерітіндінің аталық шәуеттерінің орташа қозғалғыштығынан едәуір төмен: 110 mM NaCl, 240 mM KCl, 3,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 4,3 mM NaHCO<sub>3</sub> және 18% ДМСО. Екінші ерітіндідегі аталықтардың шәуеттерінің орташа қозғалғыштығы 9-12% аралығында өзгереді. Орташа мәндерде 2 және 3 аталық (9%), 4 және 5 аталық (12%) арасында ұқсастықтар бар.



3-сурет – Ақ дөңмаңдайдың сперматозоидтарын белсендірілгеннен кейінгі қозғалғыштығы, %

Алынған мәліметтерге сүйене отырып, шәуеттердің ең үлкен белсенділігі белсендірілгеннен кейінгі алғашқы 10 секундта байқалды, содан кейін белсендіру басталғаннан бастап 55 секундқа дейін біркелкі қозғалғыштық төмендеді. 3-суретте көрсетілген ерітінділер арасында да айырмашылық бар. Метанол мен этиленгликоль негізіндегі №1 ерітіндіні пайдалану кезінде сперматозоидтардың қозғалғыштығының орташа көрсеткіштері (5 аталық) белсендірілгеннен кейін 10 секундта 10% шегінде болды, мұнда бір минут ішінде сперматозоидтардың қозғалғыштығының орташа мәні шамамен 6% құрады. №2 ерітіндіні

(110 mM NaCl, 240 mM KCl, 3,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 4,3 mM NaHCO<sub>3</sub> және 18% ДМСО) пайдалану кезінде онда сперматозоидтардың қозғалғыштығы белсендірілгеннен кейін 10 секундта 19% және бір минут ішінде тиісінше 10,4%, бұл көрсеткіштер №1 ерітіндіге қарағанда айтарлықтай жақсы болды. Шәует сапасының көрсеткіштері арасындағы айырмашылықтар криоерітіндісінде тұздардың болуын көрсетеді, олар белсендірілгеннен кейін сперматозоидтардың қозғалғыштығы мен өмір сүру уақытына оң әсер етті. Бірінші ерітіндідегі R<sup>2</sup> жуықтау сенімділігі R<sup>2</sup> = 0,9948, ал екінші ерітіндіде R<sup>2</sup> = 0,9952.

### Талқылау

Біздің зерттеулерімізде оңтайлы ортаны анықтай отырып, ақ дөңмаңдайдың шәуеттерін криоконсервациясын зерттеу жүргізілді, бұл көптеген жылдар бойы сұйық азотта ұзақ уақыт сақтауға мүмкіндік береді. Зерттеулер тұқы балықтарының сперматозоидтарын криоконсервациялаудың дамыған технологиялары негізінде жүргізіп [21], ақ дөңмаңдайдың шәуетін криоконсервациялау үшін оңтайлы ортаны орнаттық. Алайда, ғалымдардың пікірінше, криопротекторлық ортаның әсері балықтар тұқымдасына тәуелді емес [22]. Бүгінгі таңда тұқы балықтарының шәуеттерін

криоконсервациялау бойынша бірнеше зерттеулердің нәтижелері белгілі [23]. Докина О.Б. және басқалар 2019 жылы өз зерттеулерінде 3 mM сахароза, 60 mM натрий хлориді, 5% этиленгликоль және 22% метанол негізіндегі тиімді криопротекторлық ортаны пайдалана отырып, тұқы балықтарының шәуеттерін криоконсервациялаудың жетілдірілген технологиясын ұсынады. Зерттеу нәтижелері бойынша криоорта ұрықтандыру қабілетін нативті шәуеттер деңгейінде сақтай отырып, әртүрлі сападағы шәуеттерін криоортада тұрақты түрде қамтамасыз етеді [23].

Біздің зерттеулерімізде метанол мен этиленгликоль негізіндегі осы ерітіндіні қолдану жаман емес нәтиже көрсетті, орташа есеппен 10 секундта 5 аталықтың қозғалғыштығы 10% құрады, бір минут ішінде орташа көрсеткіш шамамен 6% құрады. Linhart, O.I. және т.б. өз зерттеулерінің бір бөлігі ретінде чех кәдімгі сазанының тоғыз тұқымын сақтау үшін балық шәуеттерін криоконсервациялау әдістерін әзірледі. Кәдімгі тұқы шәуеттерін Кура кур ортасында өсіріп, диметилсульфоксидпен 4°C дейін салқындатылған. Біздің зерттеулерімізде ең жақсы көрсеткіштер 110 mM NaCl, 240 mM KCl, 3,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 4,3 mM NaHCO<sub>3</sub> [24] негізіндегі №2 ерітіндісін пайдалану арқылы алынды, оған 18% ДМСО қосылды, онда шәуетті белсендірілгеннен кейін ақ дөңмандайдың сперматозоидтарының (5 аталық) қозғалғыштығының нәтижелері алғашқы 10 секундта 19% құрады, ал бір ми-

### Қорытынды

Зерттеу нәтижелері бойынша ақ дөңмандайдың нативті шәуеттерінің сапасы орта есеппен 97,2±1,04% құрады. Эквilibрациядан кейін №1 ерітіндіде шәуеттердің қозғалғыштығы 85,2±1,00 %, ал №2 ерітіндіде 87,4±1,56% құрады.

Алынған нәтижелер бойынша №2 ерітінді (ДМСО 18%) тиімді болды. Бұл ерітіндіні қолданған кезде ақ дөңмандайдың шәуеттерін белсендірілгеннен кейін 10 секундта (5 аталық) сперматозоидтардың қозғалғыштығы 19%, ал бір минут ішінде 10,4% құрады, бұл №1 ерітіндідегі көрсеткіштерге қарағанда әлдеқайда жақсы болды. Метанол мен этиленгликоль негізіндегі №1 ерітіндіні пайдаланған кезде сперматозоидтардың ор-

### Қаржыландыру туралы ақпарат

Ғылыми жұмыс 2021-2023 жылдарға арналған ғылыми-техникалық жобалар бойынша жас ғалымдарды гранттық қаржыландыру жобасы шеңберінде №AP09058175 «Қазақстан құнды балықтарының репродуктивті жасушаларының криобанкін құру» тақырыбы бойынша орындалды.

### Әдебиеттер тізімі

1 Ананьев В.И. К вопросу о создании национальной системы генофондных коллекций рыб и других гидробионтов России для аквакультуры и сохранения редких и исчезающих видов: правовые и нормативно-методологические аспекты [Текст]/ Ветеринарная патология. – 2007. – № 1. – С. 19-24.

2 Беляя М.М., Разработки южного научного центра РАН в области криоконсервации репродуктивных клеток рыб [Текст]/ Беляя М.М., Красильникова А.А., Пономарева Е.Н. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, -2018. -Т. 20. -№ 5(2). – С. 280-286.

нут ішінде сәйкесінше 10,4%.

ДМСО криопротекторы әртүрлі концентрациядағы бағалы балық түрлерінің (тұқы, албырт және бекіре) шәуеттерін криоконсервациялауда сәтті қолданылады. Е.Н.Пономарева және т.б. зерттеулерінде бекіре балықтарының аталықтарының репродуктивті жасушаларын криоконсервациялау бойынша зерттеулер ДМСО қолдану кезінде әзірленген әдістемеге сәйкес жүргізілді, бірақ криоортаның мазмұны көп компонентті құрамды қамтыды, осыған байланысты әрбір зерттелетін объект үшін ДМСО құрамы түзетілді. Авторлар протектор көлемін азайтудың тиімділігін зерттеді, бұл объектіге уытты әсерін азайтты және балықтардың дефростирленген сперматозоидтарының өмір сүру уақытының артуына әкелді [25]. Біз бұл зерттеулерде 18% концентрацияда ДМСО қолдандық.

таша қозғалғыштығы 10 секундта 10% және бір минут ішінде орташа қозғалғыштығы 6% құрады.

Екі ерітінді бойынша сперматозоидтардың мұздату жылдамдығы шамамен бірдей жылдамдыққа ие болды және 5 минутқа дейін мұздату жылдамдығы 7-80С/мин, 6 минуттан 10 минутқа дейін 10-170С/мин, 11-ден 15 минутқа дейін 5-100С/мин.

Ақ дөңмандайдың шәует сапасының көрсеткіштері арасындағы айырмашылықтар криоерітіндісінде тұздардың болуын көрсетеді, олар белсендірілгеннен кейін сперматозоидтардың қозғалғыштығы мен өмір сүру уақытына оң әсер етті.

3 Бех В.В. Криоконсервация спермы карпов украинских пород [Текст]: Докл.Межд. конф. «Сохранение генетических ресурсов», Санкт-Петербург, 19-22 октября 2004. Цитология. -2004. Т. 46. -№ 9. -769-770 с.

4 Горбунов Л.В., Воспроизводимость результатов оплодотворения ооцитов деконсервированными спермиями карпа (*Cyprinus carpio* L.) [Текст]/ Горбунов Л.В., Филипов В.Ю., Бучацкий Л.П. // Биотехнология. -2010. Т. 3. -№ 6. -С. 80-84.

5 Матишов Г.Г., Сохранение генетического разнообразия рыб методами низкотемпературного консервирования [Текст]/ Матишов Г.Г., Пономарева Е.Н., Белая М.М. // Рыбное хозяйство. -2012. -№ 3. -С. 59-62.

6 Bernath G., Improvement of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm cryopreservation using a programmable freezer [Text]/ Bernath G., Zarski D, Kása E., Staszny Á., Várkonyi L., Kollár T., Hegyi Á., Bokor Z., Urbányi B., Horváth Á. // General and Comparative Endocrinology. -2016. -Vol.237. -P 78-88.

7 Boryshpolets S., Freeze-thawing as the factor of spontaneous activation of spermatozoa motility in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [Text]/ Boryshpolets S., Dzyuba B., Rodina M., Li P., Hulak M., Gela D, Linhart O. // Cryobiology. -2009. -Vol. 59. -P.291-296.

8 Boryshpolets S., Cryopreservation of carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm: impact of seeding and freezing rates on post-thaw outputs [Text]/ Boryshpolets S., Sochorova D., Rodina M., Linhart O., Dzyuba B. // Biopreserv and Biobanking. -2017. -Vol. 15. 3. -P. 234-240.

9 Bozkurt Y., Yavas I. Effect of different straw volumes and thawing rates on post-thaw quality and fertilization ability of cryopreserved common carp (*Cyprinus carpio*) sperm [Text]/ LIMNOFISH // Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research. -2017. -Vol 3. -N 1. -P 25-31.

10 Bozkurt Y., Effect of extender supplemented with different sugar types on post-thaw motility, viability and fertilizing ability of cryopreserved common carp (*Cyprinus carpio*) [Text]/ Bozkurt Y., Yavas I., Yildiz C. // The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh, IJA. -2016. -Vol. 68. -P. 1334.

11 Dietrich M.A., Proteomic identification of seminal plasma proteins related to the freezability of carp semen [Text]/ Dietrich M.A., Irnazarow I., Ciereszko A. // Journal of Proteomics. -2017. -Vol. 162. -P. 52-61.

12 Dzyuba B., Hypotonic treatment prior to freezing improves cryoresistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa [Text]/ Dzyuba B., Cosson J., Yamaner G., Bondarenko O., Rodina M., Gela D., Bondarenko V., Shaliutina A., Linhart O. // Cryobiology. -2013. -Vol. 66. -P.192-194.

13 Horokhovatskyi Y., Lipid composition in common carp (*Cyprinus carpio*) sperm possessing different cryor [Text]/ Horokhovatskyi Y., Sampels S., Cosson J., Linhart O., Rodina M., Fedorov P., Blecha M., Dzyuba B. // Cryobiology. -2016. -Vol. 73. -P.282-285.

14 Horváth Á., Cryopreservation of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm in 1.2 and 5 ml straws and occurrence of haploids among larvae produced with cryopreserved sperm // Horváth Á., Miskolczi E., Urbányi B. // Cryobiology. -2007. -Vol.54. -P.251-257.

15 Irawan H., The effect of ext, cryoprotectants and cryopreservation methods on common carp (*Cyprinus carpio*) sperm [Text]/ Irawan H., Vuthiphandchai V., Nimrat S. //Anim. Reprod. Sci. -2010. -Vol. 122. -P. 236-243.

16 Kutluyer F., Cryopreservation of goldfish (*Carassius auratus*) spermatozoa: Effects of extender supplemented with taurine on sperm motility and DNA damage [Text]/ Kutluyer F., Öğretmen F., İnanan B.E. // CryoLetters. -2016. -Vol.37. -N 1. -P.41-46.

17 Li P., Ice-age endurance: the effects of cryopreservation on proteins of sperm of common carp, *Cyprinus carpio* L. [Text] / Li P., Hulak M., Koubek P., Sulc M., Dzyuba B., Boryshpolets S., Rodina M., Gela D., Manaskova-Postlerova P., Peknicova J., Linhart O. // Theriogenology. -2010. -Vol. 74. -P. 413-423.

18 Li P., Evaluating the impacts of osmotic and oxidative stress on Common carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm caused by cryopreservation techniques [Text]/ Li P., Li Z., Dzyuba B., Hulak M., Rodina M., Linhart O. // Biol. Reprod. -2010. -Vol. 83. -P. 852-858.

19 Лакин Г.Ф. Биометрия [Текст]: Лакин Г.Ф. // М.: Высш.школа, 1990.-352 с.

20 Коросов А.В., Компьютерная обработка биологических данных [Текст]: Коросов А.В., Горбач В.В. // Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ,– 2007. –76 с.

21 Horv'ath A., Cryopreservation of common carp sperm [Text]/ Horv'ath A., Miskolczi, E. Urb'anyi B., //Aquat. Living Resour. -2003. - N 16. -P.457-460.

22 Labb'e C., Maise G., Influence of rainbow trout thermal acclimation on sperm cryopreservation: relation to change in the lipid composition of the plasma membrane [Text]/ Aquaculture. -1996. -N145. -P.281–294.

23 Докина О.Б., Усовершенствованная технология криоконсервации спермы карпа в крупномасштабном криобанке [Текст]/ Докина О.Б., Пронина Н.Д., Ковалев К.В., Миленко В.А., Цветкова Л.И. // Рыбное хозяйство. – 2019. - № 5. – С. 97-105.

24 Linhart O., M. Rodina and J. Cosson. Cryopreservation of sperm in common carp *Cyprinus carpio*: sperm motility and hatching success of embryos [Text] / Cryobiology. -2000. -№41. -P. 241-250.

25 Пономарева Е.Н., Новые биотехнологические методы криоконсервации репродуктивных клеток осетровых видов рыб [Текст]/ Пономарева Е.Н., Красильникова А.А., Тихомиров А.М., Фирсова А.В. // Экология животных. -2016. -№11 (1). -P.59-68.

## References

1 Anan'ev V.I. K voprosu o sozdanii nacional'noj sistemy genofondnyh kollekcij ryb i drugih gidrobiontov Rossii dlya akvakul'tury i sohraneniya redkih i ischezayushchih vidov: pravovye i normativnometodologicheskie aspekty [Tekst]/ Veterinarnaya patologiya. – 2007. – № 1. – S. 19-24.

2 Belaya M.M., Razrabotki yuzhnogo nauchnogo centra RAN v oblasti kriokonservacii reproduktivnyh kletok ryb [Tekst]/ Belaya M.M., Krasil'nikova A.A., Ponomareva E.N. // Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk, -2018. t. 20. -№ 5(2).– S. 280-286.

3 Bekh V.V. Kriokonservaciya spermy karpov ukrainskih porod [Tekst]/ Dokl.Mezhd. konf. «Sohranenie geneticheskikh resursov», Sankt-Peterburg, 19-22 oktyabrya 2004. Citologiya. -2004. T. 46. -№ 9. -S.769-770.

4 Gorbunov L.V., Vosproizvodimost' rezul'tatov oplodotvoreniya oocitov dekonservirovannymi spermiyami karpa (*Syprinus carpio* L.) [Tekst]/ Gorbunov L.V., Filipov V.YU., Buchackij L.P. // Biotekhnologiya. -2010. T. 3. -№ 6. -S. 80-84.

5 Matishov G.G., Sohranenie geneticheskogo raznoobraziya ryb metodami nizkotemperaturnogo konservirovaniya [Tekst]/ Matishov G.G., Ponomareva E.N., Belaya M.M. // Rybnoe hozyajstvo. -2012. -№ 3. -S. 59-62

6 Bernath G., Improvement of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm cryopreservation using a programmable freezer [Text]/ Bernath G., Zarski D, Kása E., Staszny Á., Várkonyi L., Kollár T., Hegyi Á., Bokor Z., Urbányi B., Horváth Á. // General and Comparative Endocrinology. -2016. -Vol.237. -P7 78-88.

7 Boryshpolets S., Freeze-thawing as the factor of spontaneous activation of spermatozoa motility in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [Text]/ Boryshpolets S., Dzyuba B., Rodina M., Li P., Hulak M., Gela D, Linhart O. // Cryobiology. -2009. -Vol. 59. -P.291-296.

8 Boryshpolets S., Cryopreservation of carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm: impact of seeding and freezing rates on post-thaw outputs [Text]/ Boryshpolets S., Sochorova D., Rodina M., Linhart O., Dzyuba B. // Biopreserv and Biobanking. -2017. -Vol. 15, 3. -P. 234-240.

9 Bozkurt Y., Yavas I. Effect of different straw volumes and thawing rates on post-thaw quality and fertilization ability of cryopreserved common carp (*Cyprinus carpio*) sperm [Text]/ LIMNOFISH // Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research. -2017. -Vol. 3. -N 1. -P 25-31.

10 Bozkurt Y., Effect of extender supplemented with different sugar types on post-thaw motility, viability and fertilizing ability of cryopreserved common carp (*Cyprinus carpio*) [Text]/ Bozkurt Y., Yavas I., Yildiz C. // The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh, IJA. -2016. -Vol. 68. -P. 1334.

11 Dietrich M.A., Proteomic identification of seminal plasma proteins related to the freezability of carp semen [Text]/ Dietrich M.A., Irnazarow I, Ciereszko A. // Journal of Proteomics. -2017. -Vol. 162. -P. 52-61.

12 Dzyuba B., Hypotonic treatment prior to freezing improves cryoresistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa [Text]/ Dzyuba B., Cosson J., Yamaner G., Bondarenko O., Rodina M., Gela D., Bondarenko V., Shaliutina A., Linhart O. Cryobiology. -2013. -Vol. 66. -P.192-194.



13 Horokhovatskyi Y., Lipid composition in common carp (*Cyprinus carpio*) sperm possessing different cryor [Text] / Horokhovatskyi Y., Sampels S., Cosson J., Linhart O., Rodina M., Fedorov P., Blecha M., Dzyuba B. // *Cryobiology*. -2016. -Vol. 73. -P.282-285.

14 Horváth Á., Cryopreservation of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm in 1.2 and 5 ml straws and occurrence of haploids among larvae produced with cryopreserved sperm // Horváth Á., Miskolczi E., Urbányi B. // *Cryobiology*. -2007. -Vol.54. -P.251-257.

15 Irawan H., The effect of ext, cryoprotectants and cryopreservation methods on common carp (*Cyprinus carpio*) sperm [Text] / Irawan H., Vuthiphandchai V., Nimrat S. // *Anim. Reprod. Sci.* -2010. -Vol.122. -P. 236-243.

16 Kutluyer F., Cryopreservation of goldfish (*Carassius auratus*) spermatozoa: Effects of extender supplemented with taurine on sperm motility and DNA damage [Text] / Kutluyer F., Öğretmen F., İnanan B.E. // *CryoLetters*. -2016. -Vol.37. -N 1. -P.41-46.

17 Li P., Ice-age endurance: the effects of cryopreservation on proteins of sperm of common carp, *Cyprinus carpio* L. [Text] / Li P., Hulak M., Koubek P., Sulc M., Dzyuba B., Boryshpolets S., Rodina M., Gela D., Manaskova-Postlerova P., Peknicova J., Linhart O. // *Theriogenology*. -2010. -Vol. 74. -P. 413-423.

18 Li P., Evaluating the impacts of osmotic and oxidative stress on Common carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm caused by cryopreservation techniques [Text] / Li P., Li Z., Dzyuba B., Hulak M., Rodina M., Linhart O. // *Biol. Reprod.* -2010. -Vol. 83. -P. 852-858.

19 Lakin G.F. Biometriya [Tekst]: Lakin G.F. // M.: Vyssh.shkola, 1990. -352 s.

20 Korosov A.V., Komp'yuternaya obrabotka biologicheskikh dannyh [Tekst]: Korosov A.V., Gorbach V.V. // Petrozavodsk: Izd-vo PetrGU, 2007. -76 s.

21 Horv'ath A., Cryopreservation of common carp sperm [Text] / Horv'ath A., Miskolczi, E. Urb'anyi B., // *Aquat. Living Resour.* -2003. -№16. -P.457-460.

22 Labb'e C., Influence of rainbow trout thermal acclimation on sperm cryopreservation: relation to change in the lipid composition of the plasma membrane [Text] / Labb'e C., Maise G., // *Aquaculture*, -1996. -№145. -P.281-294.

23 Dokina O.B., Uovershenstvovannaya tekhnologiya kriokonservacii spermy karpa v krupnomasshtabnom kriobanke [Tekst] / Dokina O.B., Pronina N.D., Kovalev K.V., Milenko V.A., Cvetkova L.I. // *Rybnoe hozyajstvo*. – 2019. - № 5. – S. 97-105.

24 Linhart O., M. Cryopreservation of sperm in common carp *Cyprinus carpio*: sperm motility and hatching success of embryos [Text] / Linhart O., M. Rodina and J. Cosson. // *Cryobiology*, -2000.-№ 41. -P. 241-250.

25 Ponomareva E.N., Novye biotekhnologicheskie metody kriokonservacii reproduktivnyh kletok osetrovyyh vidov ryb [Tekst] / Ponomareva E.N., Krasil'nikova A.A., Tihomirov A.M., Firsova A.V. // *Ekologiya zhivotnyh*. -2016. -№11 (1). -P. 59-68.

## КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СПЕРМЫ БЕЛОГО ТОЛСТОЛОБИКА (*HYORINTHALMICHTHYS MOLITRIX*) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ КРИОПРОТЕКТОРОВ

*Асылбекова Айнура Серикбаевна*

*Кандидат сельскохозяйственных наук, ассоциированный профессор  
Казахский агротехнический исследовательский университет им. С.Сейфуллина  
г. Астана, Казахстан  
E-mail: gamily-05@mail.ru*

*Баринова Гулназ Калдыбаевна*

*Кандидат биологических наук  
Казахский агротехнический исследовательский университет им. С.Сейфуллина  
г. Астана, Казахстан  
E-mail: gul\_b83@mail.ru*

*Аубакирова Гульжан Аманжоловна*

*PhD, ассоциированный профессор  
Казахский агротехнический исследовательский университет им. С.Сейфуллина  
г. Астана, Казахстан  
E-mail: gulzhikk@bk.ru*

*Куанчалеев Жаксыгали Батыргалеевич*

*Магистр сельскохозяйственных наук  
Казахский агротехнический исследовательский университет им. С.Сейфуллина  
г. Астана, Казахстан  
E-mail: ihtiojax@mail.ru*

*Мусина Айнура Даниаровна*

*Докторант  
Казахский национальный университет имени аль-Фараби  
г. Алматы, Казахстан  
E-mail: ms.ikrambaeva@mail.ru*

### **Аннотация**

В статье рассмотрены криоконсервация спермы белого толстолобика с использованием различных криопротекторов. Криоконсервация репродуктивных клеток рыб является актуальным направлением в стратегии сохранения генетического биоразнообразия, а также развития рыбного хозяйства и аквакультуры. В процессе криоконсервации были использованы два криопротекторных раствора, содержащего следующие компоненты: 1) 60 mM NaCl, 3 mM сахарозы, этиленгликоль 5% и метанол 22%; 2) 110 mM NaCl, 240 mM KCl, 3,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 4,3 mM NaHCO<sub>3</sub> и 18% ДМСО. По результатам исследований, рыбоводные качества нативной спермы белого толстолобика в среднем составило 97,2±1,04%. После эквilibрации подвижность сперматозоидов на основе раствора №1 составило 85,2%, а на основе раствора №2 – 87,4% соответственно. Исходя из полученных результатов, успешным является раствор №2 (ДМСО 18%). При использовании этого раствора подвижность сперматозоидов белого толстолобика на 10 секунде после активации спермы составило 19%, а в течение минуты 10,4% соответственно. При использовании раствора №1 на основе метанола и этиленгликоля были получены средние показатели подвижности сперматозоидов 10% на 10 секунде и средние значения подвижности в течение минуты 6%. Скорость заморозки спермы белого толстолобика по двум растворам имели примерно одинаковую скорость.

**Ключевые слова:** белый толстолобик; криоконсервация; криопротектор; сперма; сперматозоид; эквilibрация; раствор.

## CRYOPRESERVATION OF SPERM OF THE SILVER CARP (*HYOPHTHALMICHTHYS MOLITRIX*) USING VARIOUS CRYOPROTECTORS

*Assylbekova Ainur Serikbaevna*

*Candidate of Agricultural Sciences,*

*Associate Professor*

*S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University*

*Astana, Kazakhstan*

*E-mail: gamily-05@mail.ru*

*Barinova Gulnaz Kaldybayevna*

*Candidate of Biological Sciences*

*S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University*

*Astana, Kazakhstan*

*E-mail: gul\_b83@mail.ru*

*Aubakirova Gulzhan Amanzholovna*

*PhD, Associate Professor*

*S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University*

*Astana, Kazakhstan*

*E-mail: ihtiojax@mail.ru*

*Kuanchaleyev Zhaxygali Batyrgaleevich*

*Master of Agricultural Sciences*

*S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University*

*Astana, Kazakhstan*

*E-mail: ihtiojax@mail.ru*

*Mussina Ainura Daniarovna*

*2nd year doctoral student*

*Al-Farabi Kazakh National University*

*Almaty, Kazakhstan*

*E-mail: ms.ikrambaeva@mail.ru*

### **Abstract**

The article discusses cryopreservation of silver carp sperm using various cryoprotectors. Cryopreservation of fish reproductive cells is an urgent direction in the strategy of preserving genetic biodiversity, as well as the development of fisheries and aquaculture. Two cryoprotective solutions containing the following components were used in the cryopreservation process: 1) 60mm NaCl, 3 mM sucrose, 5% ethylene glycol and 22% methanol; 2) 110 mM NaCl, 240 mM KCl, 3.5 mm CaCl<sub>2</sub>, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 4.3 mM NaHCO<sub>3</sub> and 18% DMSO. According to the research results, the fish-breeding qualities of the native sperm of the silver carp averaged  $97.2 \pm 1.04\%$ . According to the research results, the fish-breeding qualities of the native sperm of the silver carp before equilibration averaged  $97.2 \pm 1.04\%$ . After balancing, the motility of spermatozoa based on solution No. 1 was 85.2%, and on the basis of solution No. 2 – 87.4%, respectively. Based on the results obtained, solution No. 2 (DMSO 18%) is successful. When using this solution, the motility of silver carp spermatozoa at 10 seconds after sperm activation was 19%, and within a minute 10.4%, respectively. When using solution No. 1 based on methanol and ethylene glycol, average sperm motility values of 10% at 10 seconds and average motility values within a minute of 6% were obtained. The rate of freezing of silver carp sperm in two solutions had approximately the same rate.

**Key words:** silver carp; cryopreservation; cryoprotector; sperm; sperm; equilibration; solution.