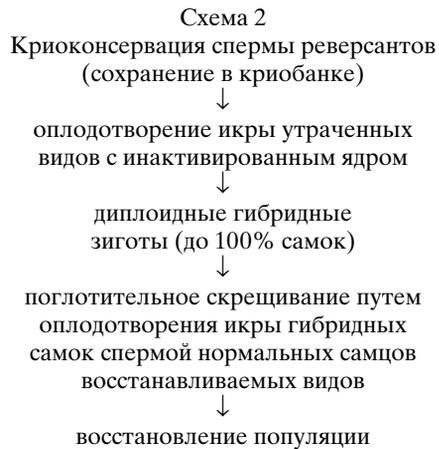
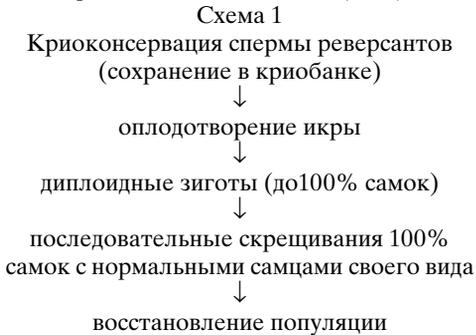


никова, 2002). Для восстановления деградировавших популяций, с утраченным геномом самок, у рыб с использованием методов криоконсервации спермы половых реверсанта, предлагаем две схемы, созданные в соавторстве с Ананьевым В.И. (2002):



Литература

1. Метальникова К.В. 1989. Современные проблемы рыбохозяйственных исследований. М.: ВНИРО. С. 89-99. 1991. Рыбное хозяйство. 1991, №12. С. 59-61. 1995. Матер. Совет. по товарному форелеводству. Мурманск. С. 48-51. 2000. Рыбное хозяйство. Сер. «Пресноводная аквакультура» ВНИЭРХ. Вып. 4. 19-24. 2002. Экологическая физиология и биохимия рыб в аспекте продуктивности водоемов. М.: Изд.-во ВНИРО. Т. 141. С. 129-137. 2002.
2. In tes. 21th Conference of European Comparative Endocrinologists (ESCE) 26-31 August, 2002. Bonn.c.1. 2004. Ananiev V. In: 5<sup>th</sup> International Symposium on Fish Endocrinology from September 5 to September 9, 2004 at the University Jaume I (UJI) of Castellon, Spain. www.5isfe.uji.es. P. 32.
3. Персов Г.М., 1969. Автореферат на соискание ученой степени доктора биологических наук. 24 с.
4. Choy L. Hew et al., 1996. Determination of genomic sex in salmonids. Patent: №5,480,774 Date Patent: Jan. 2.
5. Colombo L.R. et al., 1979. In: Bull.Zool. 15 (11). P. 89-101.
6. Gorshkov S.A. et al. 1992. In: The Rainbow Trout. // Proc.1<sup>st</sup> Aquacult. Symp. / Inst. Aquacult. University Stirling.-Scotland 4-7 Sept. 1990. Ed. G.A. Gall. USA. Amsterdam-London-New York-Tokyo. P. 99-100.
7. Hurk van Den, 1982. In: Reprod. Nutr. Develop. 22 (2). P.413-425.
8. Kitano T., Yoshinaga N., Adachi R., Abe S. In: 5<sup>th</sup> International Symposium on Fish Endocrinology from September 5 to September 9, 2004 at the University Jaume I (UJI) of Castellon, Spain.- www.5isfe.uji.es. P. 20-21.
9. Mosyagina M.V., Zelennikov O.V. 2004. In: 5<sup>th</sup> International Symposium on Fish Endocrinology from September 5 to September 9, 2004 at the University Jaume I (UJI) of Castellon, Spain. www.5isfe.uji.es. P. 20-21.
10. Omoto N., Maebayashi M., Mitsuhashi E., Yoshitomi K., Adachi S., Yamauchi K. 2002. In: Fisheries Science, 68. P. 1047-1054.
11. Thorgaard G.H. 1983. In: Fish physiology. Part 9B. Acad. Press. P.405-434.
12. Yamamoto T., 1969. In: Fish physiology New York. 3. P.117-175.

УДК 636. 619.2.32/38

**В.А. Багиров, Л.К. Эрнст, Ш.Н. Насибов**  
*ВИЖ*

## **ТЕХНОЛОГИЯ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СЕМЕНИ – МЕТОД СОХРАНЕНИЯ И РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ**

Возможность использования эпидидимального семени разных видов животных с целью получения потомства была доказана еще Ивановым И.И. (1910). Эрнст Л.К. и др. (1986), Шайдуллин И.Н. (1988), Абилов А.И. и др. (1994), Багиров В.А. (2005) подтвердили перспективность использования

этого метода, получив потомство на основе гибридизации различных видов животных. Криоконсервация эпидидимального семени на сегодня осуществлена у снежного барана (Шайдуллин И.Н., 2004) и зубра (Абилов А.И. и др., 1994).

Целью наших исследований явилась

разработка технологии получения и криоконсервации эпидидимального семени для сохранения и рационального использования генетических ресурсов разных видов животных.

Разработанная технология получения и замораживания эпидидимального семени животных включает в себя несколько этапов: 1) отбор семенников; 2) препарирование эпидидимиса; 3) получение содержимого эпидидимиса; 4) выделение сперматозоидов по фракциям; 5) разбавление сперматозоидов средой; 6) эквilibрация семени; 7) криоконсервация эпидидимального семени.

Предложенная нами технология включает отделение хвоста придатка от семенника и его освобождение от оболочек и кровеносных сосудов, оставляя чистый клубок извитого канала эпидидимиса, заполненного сперматозоидами. Через надрезы канальцев эпидидимиса получали первую фракцию спермы. После выделения первой фракции семени извитой канал измельчали, получившуюся массу смешивали с криопротективной средой и пропускали через фильтр. Затем проводили эквilibрацию и замораживание в фторопластовых пластинах на парах жидкого азота.

Данная технология включает в себя, криоконсервацию сперматозоидов не только из хвоста эпидидимиса, но и из головки и тела эпидидимиса, а также семенников. После замораживания и оттаивания сперматозоидов, полученных из этих частей, они сохраняли свою биологическую полноценность.

Разработанная технология криоконсервации эпидидимальных и тестикулярных сперматозоидов открывает новые перспективы в направлении сохранения и рационального использования генетических ресурсов. С этой целью нами впервые в мире создан криобанк семени от редких и исчезающих видов животных: архара из памирской популяции, овцебыка из Таймыра, яка из Кабардино-Балкарии и Памира, сайгака из республики Калмыкия. Кроме того, нами создан банк семени от 20 пород крупного рогатого скота, 3 пород свиней, 5 пород овец и 4 пород кроликов. Получен гибрид от яка памирской популяции и домашней коровы.

**Создание банка семени овцебыков (Ovibos moschatus).** Создание криобанка семени овцебыков является одним из актуальных вопросов в сохранении генетических ресурсов и в дальнейшем использовании в селекционно-племенной работе с овцебыками. Попытки получения спермы у

овцебыков с помощью электроэякуляции проведены Williams (2000, личное сообщение). Им было получено два эякулята, однако они были сильно загрязнены мочой и оказались непригодными для дальнейшего использования.

Отсутствовали сведения относительно нормальных показателей объективной оценки семени овцебыков. Впервые нам удалось получить и заморозить эпидидимальную сперму овцебыка и создать криобанк семени. Изучить морфометрические параметры спермиев овцебыка, влияние различных сред при криоконсервации, а также криорезистентность сперматозоидов. Создание банка семени овцебыков важно не только как метод для сохранения генетических ресурсов, он также открывает новые возможности для селекционно-племенной работы в процессе реакклиматизации, одомашнивания и расширения ареала его разведения.

**Создание банка семени яка (Bos mutus).** Як относится к категории животных, исчезающих с нашей планеты. Их осталось немного, численность яков все время уменьшается. Поэтому як внесен в Красную книгу, это поможет лучше организовать его охрану. Изучение воспроизводительных функций яков разного возраста и получение спермы, криоконсервация и создание банка семени один из надежных вариантов сохранения генетических ресурсов этого вида. Разработанная нами технология позволяет заявить, что ее использование может эффективно улучшить племенные качества одомашненных яков и их гибридов.

**Создание банка семени сайгака (Saiga tatarica).** В настоящее время сайгак находится на грани исчезновения, в силу уничтожения самцов, в результате чего до 80% самок остаются не покрытыми. Создание банка семени, позволяет сохранить и рационально использовать генофонд этого уникального вида животных, хорошо приспособленного к условиям обитания в аридной зоне.

В литературе отсутствуют данные о получении, оценке и криоконсервации спермы сайгака. В связи с этим, нами были выполнены работы по получению и сравнительной оценке электроэякулированного и эпидидимального семени сайгака. После замораживания и оттаивания сперматозоиды сайгаков сохранили свою биологическую полноценность. Сохранение сайгака в значительной степени определяющего нормальное существование и развитие степных экосистем - вопрос не простой.

В 1994-95 гг. в рамках проекта WWF была разработана Концепция сохранения сайгака и его местообитаний в Нижнем Поволжье. В республике Калмыкия создан Центр охраны дикой природы, где выращиваются в вольерах сайгаки и разработанный нами метод можно успешно использовать.

**Создание банка семени архара (*Ovis ammon*).** Архар является также тем видом, который относится к исчезающим животным. Живут они высоко в горах Памира. Их численность незначительна, и он также внесен в Красную книгу, охраняется под эгидой различных международных организаций. Получение, криоконсервация и создание банка семени один из надежных вариантов сохранения генетических ресурсов этого вида. Предложенная нами технология позволила продолжить исследования, начатые нашими предшественниками по отдаленной гибридизации.

**Интрацитоплазматическая инъекция (ICSI) сперматозоида и сперматид в ооциты.** Наступила новая эпоха сохранения и рационального использования генетических ресурсов. Один из новых методов в этом направлении - интрацитоплазматическая инъекция эякулированного, эпидидимального, тестикулярного сперматозоида и сперматид в яйцеклетку (Ogura A. et al., 1994; Tournaye H. et al., 1996; Palermo G.D. et al., 1996). В ближайшей перспективе появится возможность эффективного использования каждого сперматозоида. Такие методы уже успешно используются в медицине.

Проведенные в последнее время экспериментальные исследования в области биотехнологии показали возможность использования интрацитоплазматической инъекции даже сперматид, что позволяет полу-

### SUMMARY

**This article is devoted to the development of technology of animal sperm cryoconservation as a method of securing and rational use of rare and disappearing kinds of domestic and wild animals. For the first time in the world the cryobank of sperm of wild rams (*Ovis ammon*), musk oxes (*Ovibos moschatus*), saygas (*Saiga tatarica*) and yaks (*Bos mutus*) is created.**

### Литература

1. Абилов А.И. Эрнст Л.К., Стрекозов Н.И. Получение гибридов путем осеменения домашних коров эпидидимальным семенем диких зубров. // Метод. рекомендации. ВИЖ, Дубровицы, 1994.
2. Багиров В.А. Биотехнологические аспекты сохранения генетических ресурсов животных. автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук ВИЖ, Дубровицы, Моск. обл., 2004 г.
3. Шайдуллин И.Н. усовершенствованный метод получения и использования эпидидимального семени диких баранов. Материалы международной научно-практической конференции «Роль и значение метода искусственного осеменения с.х. в прогрессе животноводства XX и XXI веков» ВИЖ, Дубровицы, 2004г.
4. Эрнст Л.К. Проблемы селекции и биотехно-
- логии сельскохозяйственных животных. М.: РАСХН, 1995.
5. Antinori S. Successful fertilization and pregnancy after injection of frozen-thawed round spermatids into human oocytes. Hum Reprod 1997.
6. Deng M, Yang XJ. Full term development of rabbit oocytes fertilized by intracytoplasmic sperm injection. Mol Reprod Dev. 2001.
7. Ogura A., Matsuda J., Yanagimachi R. Birth of normal young after electrofusion of mouse oocytes with round spermatid. Proc Natl Acad USA. 1994.
8. Palermo G.D., Cohen J., Rosenwaks Z. Intracytoplasmic sperm injection: a powerful tool to overcome fertilization failure. Fertil. Steril. 1996.
9. Tournaye H. et al. Correlation between testicular histology and outcome after intracytoplasmic sperm injection using testicular spermatozoa. Hum Reprod 1996.