

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ЮЖНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ИНСТИТУТ АРИДНЫХ ЗОН ЮНЦ РАН
ИНСТИТУТ СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ И ГУМАНИТАРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЮНЦ РАН



**МАТЕРИАЛЫ НАУЧНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ,
ПРИУРОЧЕННЫХ К 15-ЛЕТИЮ
ЮЖНОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК:**

**МЕЖДУНАРОДНОГО НАУЧНОГО ФОРУМА
«ДОСТИЖЕНИЯ АКАДЕМИЧЕСКОЙ НАУКИ
НА ЮГЕ РОССИИ»**

**МЕЖДУНАРОДНОЙ МОЛОДЕЖНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ОКЕАНОЛОГИЯ В XXI ВЕКЕ:
СОВРЕМЕННЫЕ ФАКТЫ, МОДЕЛИ, МЕТОДЫ И СРЕДСТВА»
ПАМЯТИ ЧЛЕНА-КОРРЕСПОНДЕНТА РАН Д.Г. МАТИШОВА**

**ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«АКВАКУЛЬТУРА:
МИРОВОЙ ОПЫТ И РОССИЙСКИЕ РАЗРАБОТКИ»**

Г. РОСТОВ-НА-ДОНУ, 13–16 ДЕКАБРЯ 2017 Г.

Редколлегия:

академик Г.Г. Матишов (главный редактор), академик В.А. Бабешко, академик Ю.Ю. Балег, академик И.А. Каляев, академик В.И. Колесников, академик В.И. Лысак, академик В.И. Минкин, академик И.А. Новаков, академик Ю.С. Сидоренко, чл.-корр. РАН А.М. Никаноров, д.г.н. С.В. Бердников, д.ф.-м.н. В.В. Калинин, д.и.н. Е.Ф. Кринко, д.б.н. Е.Н. Пономарёва, к.б.н. Н.И. Булышева, к.г.н. Е.Э. Кириллова, к.б.н. В.В. Стахеев, Р.Г. Михалюк

М34 **Материалы научных мероприятий, приуроченных к 15-летию Южного научного центра Российской академии наук:** Международного научного форума «Достижения академической науки на Юге России»; Международной молодежной научной конференции «Океанология в XXI веке: современные факты, модели, методы и средства» памяти члена-корреспондента РАН Д.Г. Матишова; Всероссийской научной конференции «Аквакультура: мировой опыт и российские разработки» (г. Ростов-на-Дону, 13–16 декабря 2017 г.) / [гл. ред. акад. Г.Г. Матишов]. – Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2017. – 548 с. – ISBN 978-5-4358-0165-1.

УДК 001(063)

Издание включает материалы Международного научного форума «Достижения академической науки на Юге России», Международной молодежной научной конференции «Океанология в XXI веке: современные факты, модели, методы и средства» памяти члена-корреспондента РАН Д.Г. Матишова, Всероссийской научной конференции «Аквакультура: мировой опыт и российские разработки», проходивших в период с 13 по 16 декабря 2017 г. и приуроченных к 15-летию Южного научного центра РАН.

Представлены результаты, полученные ведущими учеными научных организаций Юга России, молодыми учеными, студентами и аспирантами при выполнении фундаментальных и прикладных исследований в приоритетных областях науки с целью обеспечения комплексного решения технологических, инженерных, экологических, геополитических, экономических, социальных, гуманитарных проблем в интересах устойчивого развития южных регионов Российской Федерации.

Материалы научных мероприятий рассчитаны на широкий круг читателей, представляют интерес для ученых, преподавателей, аспирантов, студентов высших учебных заведений и всех, кто интересуется достижениями современной науки.

Издание опубликовано при финансовой поддержке Федерального агентства научных организаций.

Отдельные результаты опубликованы в рамках популяризации результатов исследований по проекту «Разработка технических средств, биотехнологий выращивания нетрадиционных видов рыб и беспозвоночных для прогресса аквакультуры Южного и Северо-Западного федеральных округов России» ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 гг.» (соглашение № 14.607.21.0163, уникальный идентификатор RFMEF160716X0163).

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ЯЙЦЕКЛЕТОК БЕЛОРЫБИЦЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДМСО И ГЛИЦЕРИНА В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТОВ КРИОПРОТЕКТОРА

А.В. Фирсова

Южный научный центр РАН, г. Ростов-на-Дону
firsovaangelina1991@mail.ru

Резкое сокращение пресноводных и морских популяций рыб является серьезной проблемой и требует принятия неотложных мер для обеспечения сохранения разнообразия генофонда. Сохранение биоразнообразия и обеспечение выживания редких и исчезающих видов зависит от нашей способности поддерживать эти виды рыб искусственным воспроизводством. Одним из исчезающих ценных видов рыб является эндемик бассейна Каспийского моря – белорыбица. На протяжении свыше 30 лет состояние запасов белорыбицы оценивается как критически неблагоприятное. В последнее десятилетие количество идущих на нерест производителей снизилось в десятки раз. Численность стада поддерживается путем заводского воспроизводства лишь на одном из рыбободных заводов Астраханской области – Александровском [www.astrakhan.ru].

Технологии криоконсервации, применяемые в рыбном хозяйстве, позволяют сохранять генетический материал и экономить на содержании производителей рыб на рыбободных предприятиях. Криоконсервация спермы различных видов рыб достаточно успешна и широко применяется во всем мире. В то же время криоконсервация яйцеклеток и эмбрионов рыб находится лишь на стадии разработки [Пономарева и др., 2017].

В связи с вышеизложенным актуальным является вопрос разработки методики криоконсервации яйцеклеток белорыбицы. Важную роль при глубокой заморозке генетического материала играет правильно подобранный состав криопротектора, который будет способен защитить клетки от разрушения сверхнизкими температурами.

Ввиду этого целью данной работы явилось изучить действие диметилсульфоксида (ДМСО) и глицерина в качестве компонентов криопротектора на яйцеклетки белорыбицы при их криоконсервации. ДМСО и глицерин являются стандартными составляющими криопротекторов, в связи с чем и были выбраны нами для данного эксперимента. Материалом для исследований служила икра, полученная от двух самок. Получение икры у белорыбицы проводили методом отцеживания.

При проведении эксперимента использовали два различных по составу криопротектора. В состав протектора в обоих случаях входил базовый раствор (NaCl , KCl , CaCl_2 , NaHCO_3) (80 %). В первом варианте использовали глицерин (20 %), во втором варианте – ДМСО (20 %). Яйцеклетки перемешивали с криопротектором и помещали в ампулы Эппендорфа с дальнейшим их размещением в стаканы для сосуда Дьюара. Криоконсервацию проводили по методике сверхбыстрого замораживания – выполняли быстрое погружение стакана с пробками в сосуд Дьюара с жидким азотом (1500 градусов в минуту).

В нативной икре белорыбицы, как и у других видов рыб, жировые и желточные вакуоли заполняют клетку равномерно (жировые вакуоли располагаются по периферии клетки, а желточные – в центре) [Тихомиров, Фирсова, 2013] (рис. 1).

При оттаивании икры, криоконсервированной методом сверхбыстрой заморозки с использованием в составе криопротектора 20 % глицерина, выявили, что лишь 30 % яйцеклеток сохранились целыми, без внешних повреждений. Под микроскопом видно, что

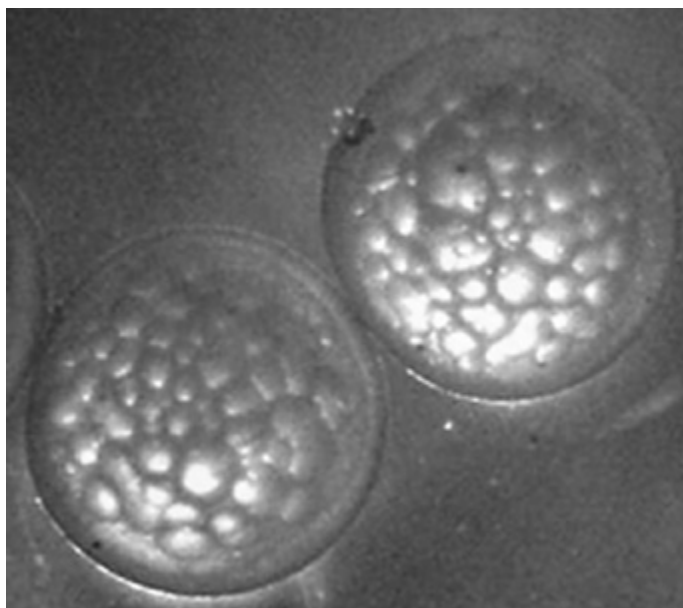


Рис. 1

Нативная икра белорыбицы

у всех икринок произошли внутренние перестройки: желточные и жировые вакуоли слились между собой (рис. 2).

При оттаивании икры, криоконсервированной методом сверхбыстрой заморозки с использованием в составе криопротектора 20 % ДМСО, выявили, что не сохранилось ни одной целой яйцеклетки – оболочки яйцеклеток не выдержали двойного температурного шока и лопнули (рис. 3).

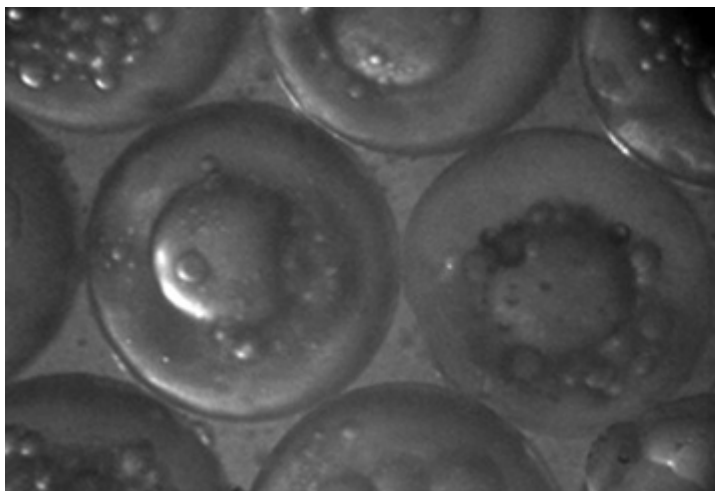


Рис. 2

Яйцеклетка белорыбицы после криоконсервации с использованием глицерина

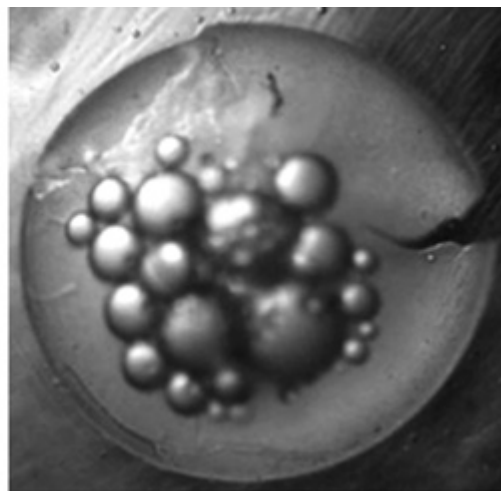


Рис. 3

Яйцеклетка белорыбицы с поврежденной оболочкой и внутренними перестройками после криоконсервации с использованием ДМСО

В результате проведенных исследований по криоконсервации икры белорыбицы с использованием стандартных компонентов в составе криопротекторов выявили, что ДМСО отрицательно влияет на яйцеклетки рыб и не защищает их от повреждений при сверхнизких температурах. В отличие от первого опыта с ДМСО, при криоконсервации нативной икры белорыбицы с использованием глицерина в составе криопротектора был получен положительный результат. При использовании глицерина после оттаивания остались неповрежденными 30 % яйцеклеток. Дальнейшие исследования по разработке методики криоконсервации яйцеклеток белорыбицы не рекомендуется проводить с введением в состав криопротектора ДМСО.

Работы проводились в рамках проекта «Разработка технических средств, биотехнологий выращивания нетрадиционных видов рыб и беспозвоночных для прогресса аквакультуры Южного и Северо-Западного федеральных округов России» (соглашение № 14.607.21.0163 от 03.10.2016, уникальный идентификатор RFMEFI60716X0163).

Исследования выполнены на уникальной научной установке № 73602 с использованием биоресурсной коллекции редких и исчезающих видов Южного научного центра РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Лазарев В. Белорыбица – последний оплот нашей былой рыбацкой славы. URL: www.astrakhan.ru/?content=news-item&id=64621 (дата обращения: 30.09.2017).

Пономарева Е.Н., Красильникова А.А. и др. Криоконсервация репродуктивных клеток рыб: история и перспективы // Рыбное хозяйство. 2017. № 4. С. 85–88.

Тихомиров А.М., Фирсова А.В. Действие воды на яйцеклетки рыб разных экологических групп // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. 2013. № 3. С. 129–132.

David M. Rawson, Tiantian Zhang. New approaches to the cryopreservation of fish oocytes and embryos // The role of biotechnology. Villa Gualino, Turin, Italy, 5–7 March, 2005. P. 209–210.