

## Криорезистентность спермы белого толстолобика после стимуляции широкоиспользуемыми гормональными препаратами

К.И. Буцкий, А.Ю. Пуговкин

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Cryoresistance of Silver Carp Sperm after Stimulation by Widely Used Hormonal Preparations

K.I. Butskiy, A.Yu. Puhovkin

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Важной задачей криобиологии является усовершенствование имеющихся способов криоконсервирования спермы рыб. Для воздействия низких температур важно качество нативной спермы. Создание условий, благоприятных для размножения рыб – сложная проблема, поэтому большое значение имеет выбор оптимального типа гормональной стимуляции завершающего этапа гаметогенеза.

Цель данной работы – сравнить влияние различной гормональной стимуляции на концентрацию АТФ в сперме и ее криорезистентность.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводили на самцах белого толстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix*). Для инъекций использовали препараты, которые применяются для стимуляции созревания сперматозоидов на рыбных хозяйствах: 2,5 мг/кг суспензии гипофиза сазана; 1 мкг/кг «Сурфагона» («МосАгроГен», Россия) – синтетического аналога гонадотропин-рилизинг-гормона млекопитающих; 1 мкг/кг «Сурфагона» с 5 мг/кг «Метоклопрамида» – блокатора дофаминовых рецепторов; 0,5 гранулы/кг коммерческого препарата «Овопель» (Венгрия). Определение АТФ проводили ферментативным методом с преобразованием НАДН в НАДФН в системе соединенных ферментативных реакций. Криоконсервирование осуществлялось по стандартной методике для спермы карповых [Е.Ф. Копейка, 1986].

**Результаты.** В результате проведенных экспериментов получены следующие уровни подвижности до и после криоконсервирования:  $(80 \pm 17)$  и  $(33 \pm 10)\%$  при стимуляции гипофизом,  $(53 \pm 27)$  и  $(32 \pm 15)\%$  для стимуляции смесью «Сурфагона» с «Метоклопрамидом», после инъекции препарата «Овопель»  $(85 \pm 13)$  и  $(30 \pm 15)\%$ . Самцы с инъекциями «Сурфагона» не созрели. Время подвижности сперматозоидов не имело значимых различий и составляло ~45 с. Показано, что сперма с наибольшим уровнем подвижных клеток получена после стимуляции гормональным препаратом «Овопель». Хотя после стимуляции самцов смесью «Сурфагона» с «Метоклопрамидом» полученные сперматозоиды имели меньший уровень подвижности, качество криоконсервированной спермы белого толстолобика не имело значимых различий. Это свидетельствует о большей криорезистентности спермы после стимуляции смесью «Сурфагона» с «Метоклопрамидом». Поскольку энергетические характеристики связаны с криорезистентностью [Е.Ф. Копейка, 1997], для объяснения различий проведено исследование концентрации АТФ в нативной сперме толстолобика: после стимуляции смесью «Сурфагона» с «Метоклопрамидом» наблюдается почти вдвое больший уровень АТФ.

An important issue of cryobiology is to improve the available methods for fish sperm cryopreservation. Fresh sperm quality is very important for low temperature exposure. Establishing favorable conditions for fish breeding may be difficult task, so of great importance is to select the optimal hormonal stimulation type of the final gametogenesis stage.

The aim of this work was to compare the effect of different hormonal stimulation on the ATP concentration in sperm and its cryoresistance.

**Materials and methods.** Experiments were performed in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) males. For injections we used the following preparations applied to stimulate the spermatozoa maturation in fish farms: 2.5 mg/kg of carp pituitary suspension; 1 µg/kg Surfagon (MosAgroGen, Russia) – a synthetic analogue of gonadotropin-releasing hormone for mammals; 1 µg/kg Surfagon and 5 µg/kg Metoclopramide – dopamine receptor blocker; 0.5 granules/kg of commercial drug Ovopel (Hungary). ATP was determined by enzymatic method assessing the transformation of NADH into NADPH in the system of coupled enzymatic reactions. Cryopreservation was made by the standard method for carp sperm [E.F. Kopeika, 1986].

**Results.** The experiments showed the following levels of motility before and after cryopreservation, correspondingly:  $(80 \pm 17)$  and  $(33 \pm 10)\%$  in case of stimulation with pituitary gland;  $(53 \pm 27)$  and  $(32 \pm 15)\%$  for stimulation with a mixture of Surfagon and Metoclopramide; and after Ovopel injection the indices were  $(85 \pm 13)$  and  $(30 \pm 15)\%$ ; the males who received Surfagon had no sperm generated. Motility time had no significant differences and was ~45 s. It was shown that sperm with the highest level of motile cells was obtained after stimulation with hormonal drug Ovopel. Although after stimulating males with a mixture of Surfagon and Metoclopramide the procured spermatozoa had lower level of motility, the quality of cryopreserved silver carp sperm in all samples had no significant differences. This indicated a higher cryoresistance of sperm after stimulation with a mixture of Surfagon and Metoclopramide.

As the energy characteristics are associated with the cryoresistance [E.F. Kopeika, 1997], in order to explain the differences we investigated the ATP concentration in fresh sperm of silver carp: almost twice higher ATP level was noted after stimulation with Surfagon and Metoclopramide mixture.

