

УДК: 639.371.7:57.086.13
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.491

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМЫ АФРИКАНСКОГО КЛАРИЕВОГО СОМА (*CLARIAS GARIEPINUS*) ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ АКВАКУЛЬТУРЫ

Теплякова А.В. * – канд. биол. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9227-3206); Григорьев В.А. – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-3262-4198)

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Южный научный центр Российской академии наук»

*firsovaangelina1991@mail.ru

Ключевые слова: аквакультура, африканский клариевый сом, криоконсервация, репродуктивные клетки, криопротектор, биотехнология.

Key words: aquaculture, African catfish, cryopreservation, reproductive cells, cryoprotectant, biotechnology.

Финансирование: Публикация подготовлена в рамках реализации ГЗ ЮНЦ РАН на 2025 г., № госрегистрации 125011200145-8.

Поступила: 18.07.2025

Принята к публикации: 05.12.2025

Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

Африканский клариевый сом (*Clarias gariepinus*) – один из перспективных объектов современной аквакультуры. В естественной среде обитания у сома сезон размножения коррелирует с периодами максимального количества осадков. Криоконсервация спермы в аквакультуре широко используется для круглогодичного обеспечения гаметами и последующего оплодотворения вне репродуктивных сезонов.

Целью исследований явилась оптимизация методов криоконсервации спермы клариевого сома для использования на предприятиях аквакультуры юга России. Исследовано два состава среды-разбавителя и экспериментальная установка для контролируемого замораживания спермы сома в парах жидкого азота. Скоростной режим замораживания спермы рыб является видоспецифичным и подбирается для каждого вида рыб экспериментальным путем. Использование экспериментальной криокамеры из пенополистирола внутренним размером (В×Ш×Д) 21×20×24,5 см и толщиной стенки 5,5 см позволило провести глубокое замораживание репродуктивных клеток сома со скоростью охлаждения 6,5 градусов в минуту до температуры –80°C с дальнейшим погружением в жидкий азот (t=–196°C). В первом варианте опыта в состав среды-разбавителя входил базовый раствор (NaCl, KCl, CaCl₂, NaHCO₃) и диметилсульфоксид в концентрации 5 %. Во втором варианте опыта к этому составу была добавлена глюкоза в концентрации 18 г/л. Среднее время жизни сперматозоидов после оттаивания в опыте без глюкозы составило 46 сек., что на 5 сек. меньше, чем в опыте с глюкозой. В опыте с добавлением глюкозы доля по-

движных сперматозоидов составила 40 %, тогда как в опыте без глюкозы лишь 20 %. Показано, что добавление к среде-разбавителю глюкозы обеспечивает наилучшую выживаемость спермы африканского сома по показателям подвижности после оттаивания.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Растущий спрос на рыбу и морепродукты и истощение запасов дикой рыбы стимулировали интерес к аквакультуре как к устойчивой альтернативе производства продуктов питания [1]. В связи с чем в рыбоводстве возникла необходимость расширения ассортимента рыбной продукции, произведенной в искусственных условиях.

Согласно исследованиям, африканский клариевый сом – один из перспективных объектов современной аквакультуры [2]. Он известен своей устойчивостью к болезням и стрессу, высокой скоростью роста, хорошей адаптацией к широкому диапазону параметров окружающей среды. Наличие наджаберного органа для дыхания атмосферным кислородом позволяет выращивать его при увеличенной плотности посадки [3].

В естественной среде обитания у сома прерывистый годовой репродуктивный цикл, а сезон размножения коррелирует с периодами максимального количества осадков [4], наилучшего качества сперма отбирается именно в период естественного нереста [5]. При содержании сомов в искусственных условиях период их нереста не всегда совпадает с технологическим процессом предприятия, от этого качество получаемой спермы значительно снижается. В связи с этим, криоконсервация репродуктивных клеток самцов рыб является одним из основных способов решения проблем, связанных с обеспечением рыбоводного хозяйства высококачественной спермой. Криоконсервация может помочь в поддержании популяции путем использования большего количества спермы и при этом содержать меньшее количество самцов в маточном стаде [6]. Использование криоконсервированной спермы рыб является самым простым и недорогим методом предотвращения пагубного влияния инбридинга и генетического дрейфа, а также сохранения геномов.

Криоконсервация клеток включает несколько факторов, которые необходимо отрегулировать для каждого вида рыб для улучшения криовыживаемости спермы [7]. Результат глубокого замораживания будет зависеть от качества свежей спермы, состава базового разбавителя, типа криопротектора и его концентрации, а также скорости замораживания и оттаивания [8].

Кривая охлаждения является значимым фактором в процессе криоконсервации, который важен для снижения метаболизма сперматозоидов и может существенно повлиять на выживаемость сперматозоидов после размораживания [9]. В настоящее время разработаны программируемые устройства для криоконсервации спермы, которые позволяют выбирать желаемую кривую охлаждения. Однако они недостаточно мобильны, а их стоимость очень высока по сравнению с более простыми методами криоконсервации, которые используются в полевых условиях [10]. При криоконсервации семени сельскохозяйственных животных в полевых условиях обычно используют простые материалы для медленного охлаждения, такие как термоконтейнеры со льдом или бытовые холодильники, а для замораживания используются пенопластовые коробки с жидким азотом [11]. Несмотря на их низкую стоимость и мобильность, проблемой этих методов является отсутствие стандартизации кривой охлаждения из-за большого разброса в размере и толщине короба, времени замораживания, внешних условий использования, что приводит к разбросу результатов криоконсервации [10].

Вторым важным моментом при разработке методики криоконсервации спермы африканского сома является подбор криопротектора. Сперма африканского сома была впервые успешно криоконсервирована Steyn с соавторами [12], которые получили 40 % подвижности сперматозоидов через 24 часа хранения клеток в

жидком азоте. Позже было показано, что эффективной является среда, включающая глюкозу с диметилсульфоксидом (ДМСО) [13]. Несмотря на достигнутые успехи в криоконсервации репродуктивных клеток африканского сома, полученные результаты часто невоспроизводимы и не всегда обеспечивают высокий процент выживаемости дефростированных сперматозоидов. Это связано с тем, что на процесс криоконсервации оказывает влияние большое количество факторов: физиологическое состояние производителей, качество репродуктивных клеток, индивидуальные особенности рыб разных популяций, физические факторы и т.д. [14]. В связи с этим, в настоящее время актуальным направлением исследований является адаптирование технологий криоконсервации спермы клариевого сома, разработанных в странах с его естественной средой обитания, для условий рыбководных предприятий юга России, путём подбора оптимального состава криопротекторной среды.

В связи с вышеизложенным, целью исследований явилась оптимизация методов криоконсервации спермы клариевого сома для использования на предприятиях аквакультуры юга России.

MATERIALS AND METHODS / МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследований служила сперма африканского сома (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822), отобранная от двух самцов. Самцы-производители содержались в установке замкнутого водоснабжения. Температура воды в бассейне с самцами африканского сома составляла 21 °С. Для получения репродуктивных клеток предварительно была проведена гормональная инъекция гипофизом карпа с дозой 4,5 мг на 1 кг массы тела.

Из-за биологических особенностей репродуктивной системы самцов сома, семенники получали у рыб, предварительно анестезированных и умерщвленных в соответствии с международными нормами лабораторной практики. Полость тела осторожно вскрывали стерильным скальпелем, чтобы не повредить се-

менники. Далее семенники извлекали, обтирали фильтровальной бумагой и помещали в чашку Петри. Для высвобождения спермы из семенников делали несколько надрезов. Вытекшую сперму собирали стерильным шприцем. Для исследования использовали сперму сома с активностью 4 и 5 баллов, определяемую по шкале Персова [15]. Качество спермы оценивали до и после глубокого замораживания, для этого определяли процент сперматозоидов с поступательными и колебательными движениями и время их движения. Процентное содержание подвижных сперматозоидов определяли с помощью бинокулярного микроскопа Микмед-5 с видеоокулярном НВ-200 (ЛЮМО, Россия) после добавления к сперме воды в качестве активирующего раствора в соотношении 1:1000. Время движения сперматозоидов определяли от момента активации спермы водой до прекращения движения последних сперматозоидов в поле зрения микроскопа с использованием секундомера.

В состав базовой среды-разбавителя входили NaCl (6,5 г/л), KCl (0,25 г/л), CaCl₂ (0,2 г/л), NaHCO₃ (2 г/л). В качестве основного компонента криопротектора использовали диметилсульфоксид (ДМСО). В первом варианте опыта применяли базовую среду-разбавитель и ДМСО в концентрации 5 %. Во втором варианте опыта к этому составу была добавлена глюкоза в концентрации 18 г/л. Разбавление спермы проводили в соотношении 1:1 и оставляли на эквilibрацию в течение 12 минут при температуре +4 °С, далее распределяли по трем маркированным криопробиркам с завинчивающимися крышками объемом 2 мл. Перед замораживанием оценивали качество спермы в каждой пробирке по 3 раза (n=9) во всех вариантах опыта.

Пробирки с материалом замораживали двухэтапным протоколом замораживания: сначала медленным охлаждением до температуры -80 °С с дальнейшим быстрым погружением проб в жидкий азот (-196 °С). Первый этап замораживания проводили с использованием эксперимен-

тальной установки. Для этого использовали криокамеру из пенополистирола внутренним размером (В×Ш×Д) 21×20×24,5 см и толщиной стенки 5,5 см. На дно помещали перфорированную полку высотой 8 см, которая позволяет установить штатив с криопробирками в парах азота. Жидкий азот наливали в криокамеру до отметки на 1,5 см ниже уровня полки, после чего криокамеру закрывали крышкой для равномерного охлаждения камеры и стабилизации температуры (5 мин.). Для измерения температуры использовали цифровой двухканальный термометр GM1312 с датчиками К-типа (диапазон измерения температуры от –200 °С до +1372 °С). Один датчик температуры помещали в пробирку, а второй датчик находился в боксе, в соответствии с рисунком 1. Таким образом фиксировали температуру исследуемого материала и внешнюю температуру в боксе. Скорость охлаждения определяли при помощи секундомера. Бокс с пробирками и установленными термометрами помещали в подготовленную криокамеру с жидким азотом и плотно закрывали крышкой.

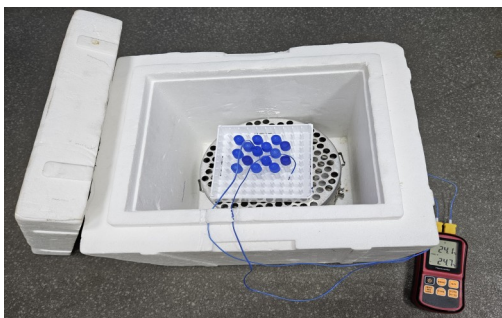


Рисунок 1 – Экспериментальная установка для контролируемого замораживания в парах жидкого азота.

После достижения температуры в пробирке с материалом отметки –80 °С, все пробирки переносили пинцетом в стакан для замораживания и опускали его в сосуд Дьюара с жидким азотом (–196 °С). Оттаивание проб проводили на водяной бане при температуре +38 °С в течение 1 минуты и далее до полного оттаивания проб при комнатной температуре. После

оттаивания спермы проводилась трехкратная оценка качественных показателей репродуктивных клеток во всех опытных вариантах.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Для проведения эксперимента было отобрано и проинъецировано два самца африканского сома. После оценки качества полученной спермы выяснили, что сперма у самца № 2 непригодна для криоконсервации, так как доля живых сперматозоидов составила 30 % (табл. 1). В связи с чем было принято решение использовать сперму лишь от самца № 1. Выбор был сделан в пользу наиболее репрезентативного образца, соответствующего строгим критериям отбора для достоверной оценки эффективности методики криоконсервации. Проведение исследований на сперме высокого качества позволило исключить влияние низкоккачественного материала на результаты. Использование спермы от одного самца-производителя позволило минимизировать влияние индивидуальных различий и обеспечить стандартизацию условий при исследовании двух составов среды-разбавителя. Данные исследования носили пилотный характер. Криоконсервация спермы от одного самца-производителя рассматривалась как модель исследования, в дальнейшем же эксперименты будут продолжены и проведены с использованием большего количества спермы, полученной от разных самцов, для достоверного подтверждения пригодности технологии заморозки репродуктивных клеток для данного вида рыб.

Процесс первого этапа замораживания (медленного) от +18 °С до –80 °С занял 15 минут. Кривая охлаждения представлена на рисунке 2. Скоростной режим замораживания спермы рыб является видоспецифичным и подбирается для каждого вида рыб экспериментальным путем. Исходя из полученных данных, определили среднюю скорость охлаждения замораживаемого материала, которая составила 6,5 градуса в минуту. Подвижность сперматозоидов африканского сома до и после размораживания представлены в табл. 2.

Таблица 1 – Рыбоводно-биологические показатели самцов африканского сома

Показатель	Самец № 1	Самец № 2
Масса самца, г	1460	1215
Доза гипофиза на самца, мг	6,6	5,5
Доля подвижных сперматозоидов, %	90 ± 1	30 ± 2
Время жизни сперматозоидов, с	60 ± 3	35 ± 3

Таблица 2 – Подвижность сперматозоидов африканского сома до и после размораживания

Вариант опыта	До замораживания (после эквilibрации)		После оттаивания	
	% подвижности	время жизни, с	% подвижности	время жизни, с
Нативная сперма	90 ± 1	60 ± 3	0	0
ДМСО 5%	90 ± 1	42 ± 4	20 ± 5	46 ± 2
ДМСО 5% + глюкоза	90 ± 1	55 ± 2	40 ± 1	51 ± 1

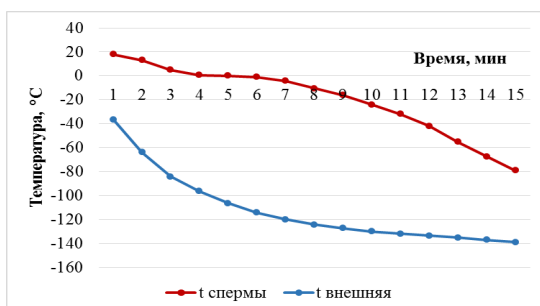


Рисунок 2 – Кривая скорости охлаждения репродуктивных клеток в экспериментальной установке.

После эквilibрации спермы совместно с криопротектором наблюдали снижение подвижности сперматозоидов. Наибольшее снижение подвижности клеток отмечено в варианте опыта без добавления глюкозы, где время подвижности составило 42 секунды. Добавление 5 % ДМСО в криосреду в 1,4 раз сокращает время подвижности сперматозоидов африканского сома перед замораживанием. Проведенное исследование доказывает негативное влияние ДМСО на сперму африканского сома, проявляющееся в ухудшении ее рыбоводных качеств. Использование глюкозы в составе криопротектора во время эквilibрации позволяет сохранить подвижность сперматозоидов на уровне, приближенном к нативной сперме.

Добавление к протектору глюкозы обеспечивает наилучшую защиту спермы в отношении параметров подвижности после размораживания. Так, в опыте с добавлением глюкозы, доля подвижных сперматозоидов составила 40 %, тогда как в опыте без глюкозы лишь 20 %. Ранее учеными было доказано, что сахара в составе криопротектора стабилизируют мембраны, увеличивают осмоляльность внеклеточного пространства, что приводит к дегидратации клеток и снижению частоты образования внутриклеточного льда [16].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, показана возможность использования мобильной криокамеры для криоконсервации спермы африканского сома в условиях рыбоводных пред-

приятый. Скорость охлаждения 6,5 градусов в минуту и использование в составе криопротектора ДМСО (5 %) и глюкозы (18 г/л) позволило получить 40 % живых клеток после оттаивания.

В связи с тем, что скорость охлаждения для каждого вида рыб специфична, необходимо провести дальнейшие исследования по подбору скоростного режима охлаждения спермы африканского сома. Регулировать скорость охлаждения в экспериментальной криокамере возможно путем повышения или понижения уровня жидкого азота.

Проведенные предварительные исследования показали, что содержание в составе криопротектора глюкозы в концентрации 18 г/л позволяет в 2 раза увеличить долю подвижных сперматозоидов африканского сома после криоконсервации (40 %) относительно варианта опыта, где глюкоза в составе криопротектора отсутствует (20 %). Глюкоза играет важную роль в защите клеток от криоповреждений, однако эффективна в узком диапазоне концентраций, в связи с чем перспективны исследования по подбору оптимальной концентрации глюкозы в составе криопротектора для спермы африканского сома.

OPTIMIZATION OF AFRICAN CATFISH (*CLARIAS GARIEPINUS*) SPERM CRYOPRESERVATION METHODS FOR FIELD USE IN AQUACULTURE ENTERPRISES

Teplyakova A.V. – PhD (biological), researcher (ORCID 0000-0001-9227-3206); **Grigiriev V.A.** – PhD (biological), Leading Researcher (ORCID 0000-0002-3262-4198).

Federal State Budget Institution of Science «Federal Research Centre the Southern Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences»

*firsovaangelina1991@mail.ru

Financing: The publication was prepared within the framework of the implementation of the State Task Force of the Southern Scientific Center of the Russian Academy

of Sciences for 2025, state registration number 125011200145-8.

ABSTRACT

African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) is one of the promising objects of modern aquaculture. In the natural habitat, the breeding season of catfish correlates with periods of maximum rainfall. Cryopreservation of sperm in aquaculture is widely used to provide gametes for fertilization year-round outside the reproductive seasons. The aim of the research was to optimize the methods of cryopreservation of sharptooth catfish sperm for use in aquaculture enterprises in the south of Russia. Two cryoprotectant compositions and an experimental setup for controlled freezing of catfish sperm in liquid nitrogen vapor were studied. The speed mode of freezing fish sperm is species-specific and is selected for each fish species experimentally. Using an experimental cryochamber made of expanded polystyrene with the internal dimensions (H×W×D) of 21×20×24.5 cm and a wall thickness of 5.5 cm made it possible to deep freeze the reproductive cells of catfish at a cooling rate of 6.5 degrees per minute to a temperature of –80°C with further immersion in liquid nitrogen (t= –196°C). In the first version of the experiment, the cryoprotector included a basic solution (NaCl, KCl, CaCl₂, NaHCO₃) and dimethyl sulfoxide at a concentration of 5%. In the second version of the experiment, glucose at a concentration of 18 g/l was added to this composition. The average lifetime of spermatozoa after thawing in the experiment without glucose was 46 sec., which is 5 sec. less than in the experiment with glucose. In the experiment with the addition of glucose, the proportion of motile spermatozoa was 40%, while in the experiment without glucose it was only 20%. It has been shown that addition of glucose to the protector provides the best survival of African catfish sperm in terms of motility after thawing.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Marinchenko, T. E. Aquaculture in The World and Russia: State and Prospects / T. E. Marinchenko // IOP Conference Series:

- Earth and Environmental Science. — 2021. — Vol. 715, Art. No. 012052. — P. 1–8. DOI:10.1088/1755-1315/715/1/012052. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45790413>.
2. Сафаров, М. М. Африканский сом один из перспективных объектов аквакультуры / М. М. Сафаров, М. Ш. К. Шомуратова // Science and innovation. — 2024. — Vol. 3, No. Special Issue 40. — P. 558–561. Режим доступа: <https://doi.org/10.5281/zenodo.11483634>.
3. Калайда, М. Л. Клариевый сом *Clarias gariepinus* при задачах искусственного воспроизводства / М. Л. Калайда, Е.С. Пиганов, А. А. Калайда, М. Ф. Хамитова // Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации. — Материалы V Национальной научно-практической конференции. — Саратов: ООО «Амирит», 2020. — С.108–113. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44240870>.
4. Власов, В. А. Воспроизводство и выращивание клариевого сома (*Clarias gariepinus*) в установках с замкнутым водообеспечением (УЗВ) / В. А. Власов // Рыбоводство и рыбное хозяйство. — 2012. — № 7. — С. 26–35. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23148806>.
5. Muchlisin, Z. Exploration of natural cryoprotectants for cryopreservation of African catfish, *Clarias gariepinus*, Burchell 1822 (Pisces: Clariidae) spermatozoa / Z. Muchlisin, W. N. Nadiyah, N. Nadiya, N. Fadli, A. Hendri, M. Khalil, M. Siti-Azizah // Czech Journal of Animal Science. — 2015. — V. 60. — P. 10–15. DOI 10.17221/7906-CJAS.
6. Betsy, C. Cryopreservation and Its Application in Aquaculture / C. Betsy, K. S. Sam-path. — In book: Animal Reproduction. — 2021. — P. 1–24. DOI 10.5772/intechopen.99629.
7. Nynca, J. Effect of cryopreservation on sperm motility parameters and fertilizing ability of brown trout semen / J. Nynca, G. Dietrich, S. Dobosz, J. Grudniewska, A. Ciereszko // Aquaculture. — 2014. — Vol. 433. — P. 62–65. DOI:10.1016/j.aquaculture.2014.05.037.
8. Mansour, N. Effect of extender composition and freezing rate on post-thaw motility and fertility of Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.), spermatozoa / N. Mansour, G. F. Richardson, M. A. McNiven // Aquaculture Research. — 2006. — Vol. 37. — P. 862–868. DOI 10.1111/j.1365-2109.2006.01503.x.
9. Белая, М. М. Влияние скорости замораживания на рыбоводные качества спермы осетровых рыб / М. М. Белая, А. А. Красильникова // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. — 2019. — № 1. — С. 83–90. DOI 10.24143/2073-5529-2019-1-83-90. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37115566>.
10. Abud, C. O. G. Comparison between the conventional and automated systems of semen bovine cryopreservation / C. O. G. Abud, L. J. Abud, J. C. O. Neto, M. A. N. Dode, J. R. B. Sereno, C. F. Martins // Ciencia Animal Brasileira. — 2014. — Vol. 15, No. 1. — P. 32–37. DOI 10.5216/cab.v15i1.12233.
11. Dias E. A. R. Evaluation of cooling and freezing systems of bovine semen / E. A. R. Dias, S. P. Campanholi, G. F. Rossi, C. D. P. F. Dell’Aqua, J. A. Dell’Aqua, F. O. Papa, M. F. Zorzetto, C. C. P. De Paz, L. Z. Oliveira, M. E. Z. Mercadante, F. M. Monteiro // Animal Reproduction Science. — 2018. — Vol. 195. — P. 102–111. DOI 10.1016/j.anireprosci.2018.05.012.
12. Steyn, G. J. Preliminary investigations on the cryopreservation of *Clarias gariepinus* (Clariidae: pisces) sperm / G. J. Steyn, J. H. J. Van Vuren, H. J. Schoonbe, N.H. Chao // Water SA. — 1985. — Vol. 11, No. 1. — P. 15–18. Режим доступа: https://www.wrc.org.za/wp-content/uploads/mdocs/WaterSA_1985_11_0332.PDF
13. Urbanyi, B. Effect of extenders on sperm cryopreservation of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) / B. Urbanyi, A. Horvath, Z. Varga, L. Horvath // Aquaculture Research. — 2001. — Vol. 30. — P.145–151. DOI 10.1046/j.1365-2109.1999.00313.x.
14. Богатырева, М. М. Оптимизация методов криоконсервации спермы для сохра-

нения генофонда осетровых рыб: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.06 / М. М. Богатырева. — Астраханский государственный технический университет. — Астрахань: АГТУ, 2010. — 126 с. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=19108488>.

15. Chebanov, M. S. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper / M. S. Chebanov, E. V. Galich. — Ankara, FAO, 2013. — P. 558.

16. Nynca J., Utility of different sugar extenders for cryopreservation and post-thaw storage of sperm from Salmonidae species / J. Nynca, S. Judycka, E. Liszewska, S. Dobosz, J. Grudniewska, K. Arai, T. Fujimoto, A. Ciereszko // *Aquaculture*, 2016. — Vol. 464. — P. 340–348. DOI 10.1016/j.aquaculture.2016.07.014.

REFERENCES

1. Marinchenko, T. E. Aquaculture in The World and Russia: State and Prospects / T. E. Marinchenko // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021:715: 012052. — DOI:10.1088/1755-1315/715/1/012052. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45790413>.

2. Safarov, M. M. African catfish as one of the promising objects of aquaculture / M. M. Safarov, M. Sh. K. Shomuratova // *Science and innovation*. 2024: 3(40):558–561. URL: <https://doi.org/10.5281/zenodo.11483634> (In Russ.)

3. Kalaida, M. L. Clarias catfish *Clarias Gariepinus* in artificial reproduction tasks / M. L. Kalaida, E. S. Piganov, A. A. Kalaida, M. F. Khamitova // *The state and ways of development of aquaculture in the Russian Federation. - Proceedings of the V National Scientific and Practical Conference. - Saratov: OOO "Amirit". 2020.108-113. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44240870* (In Russ.)

4. Vlasov, V. A. Reproduction and cultivation of *Clarias catfish* (*Clarias gariepinus*) in recirculating aquaculture systems (RAS) / V. A. Vlasov // *Fish farming and fish industry*. 2012:7:26–35. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23148806> (In Russ.)

5. Muchlisin, Z. Exploration of natural cryoprotectants for cryopreservation of African catfish, *Clarias gariepinus*, Burchell 1822 (Pisces: Clariidae) spermatozoa / Z. Muchlisin, W. N. Nadiyah, N. Nadiya, N. Fadli, A. Hendri, M. Khalil, M. Siti-Azizah // *Czech Journal of Animal Science*. 2015:60:10–15. — DOI 10.17221/7906-CJAS.

6. Betsy, C. Cryopreservation and Its Application in Aquaculture / C. Betsy, K. S. Sampath. — In book: *Animal Reproduction*. 2021:1-24. — DOI 10.5772/intechopen.99629.

7. Nynca, J. Effect of cryopreservation on sperm motility parameters and fertilizing ability of brown trout semen / J. Nynca, G. Dietrich, S. Dobosz, J. Grudniewska, A. Ciereszko // *Aquaculture*. 2014:433:62–65. DOI 10.1016/j.aquaculture.2014.05.037.

8. Mansour, N. Effect of extender composition and freezing rate on post-thaw motility and fertility of Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.), spermatozoa / N. Mansour, G. F. Richardson, M. A. McNiven // *Aquaculture Research*. 2006: 37:862-868. — DOI 10.1111/j.1365-2109.2006.01503.x.

9. Belaya, M. M. Effect of freezing rate on fish-breeding qualities of sturgeon sperm / M. M. Belaya, A. A. Krasilnikova // *Bulletin of Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries*. 2019:1:83–90. — DOI 10.24143/2073-5529-2019-1-83-90. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37115566> (In Russ.)

10. Abud, C. O. G. Comparison between the conventional and automated systems of semen bovine cryopreservation / C. O. G. Abud, L. J. Abud, J. C. O. Neto, M. A. N. Dode, J. R. B. Sereno, C. F. Martins // *Ciencia Animal Brasileira*. 2014:15(1):32–37. — DOI 10.5216/cab.v15i1.12233.

11. Dias E. A. R. Evaluation of cooling and freezing systems of bovine semen / E. A. R. Dias, S. P. Campanholi, G. F. Rossi, C. D. P. F. Dell'Aqua, J. A. Dell'Aqua, F. O. Papa, M. F. Zorzetto, C. C. P. De Paz, L. Z. Oliveira, M. E. Z. Mercadante, F. M. Monteiro // *Animal Reproduction Science*. 2018:195:102–111. DOI 10.1016/j.anireprosci.2018.05.012.

12. Steyn, G. J. Preliminary investigations on

- the cryopreservation of *Clarias gariepinus* (Clariidae: pisces) sperm / G. J. Steyn, J. H. J. Van Vuren, H. J. Schoonbe, N.H. Chao // *Water SA*.1985:11(1):15–18. URL: https://www.wrc.org.za/wp-content/uploads/mdocs/WaterSA_1985_11_0332.PDF.
13. Urbanyi, B. Effect of extenders on sperm cryopreservation of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) / B. Urbanyi, A. Horvath, Z. Varga, L. Horvath // *Aquaculture Research*.2001:30:145–151. – DOI 10.1046/j.1365-2109.1999.00313.x.
14. Bogatyreva, M. M. Optimization of sperm cryopreservation methods for preserving the sturgeon gene pool: diss... Cand. of Biological Sciences: 03.02.06 / M. M. Bogatyreva. — Astrakhan State Technical University. — Astrakhan: ASTU, 2010. — 126 p. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=19108488> (In Russ.)
15. Chebanov, M. S. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper / M. S. Chebanov, E. V. Galich. — Ankara, FAO, 2013:558.
16. Nynca, J. Utility of different sugar extenders for cryopreservation and post-thaw storage of sperm from Salmonidae species / J. Nynca, S. Judycka, E. Liszewska, S. Dobosz, J. Grudniewska, K. Arai, T. Fujimoto, A. Ciereszko // *Aquaculture*.2016:464:340–348. – DOI 10.1016/j.aquaculture.2016.07.014.