

Гипотермическое хранение уринальной спермы бесхвостых амфибий с антибиотиками: современное состояние проблемы

С. А. Каурова [✉], Н. В. Шишова, В. К. Утешев

*Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр
«Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
Россия, 142290, г. Пушкино Московской области, ул. Институтская, д. 3*

Информация о статье

Краткое сообщение

УДК 581.351.2

[https://doi.org/10.18500/1814-6090-](https://doi.org/10.18500/1814-6090-2026-26-1-2-52-58)

2026-26-1-2-52-58

EDN: SYERPW

Поступила в редакцию 19.02.2025,
после доработки 18.08.2025,
принята 05.03.2026

Аннотация. В связи с шестым массовым вымиранием животных особую актуальность приобретают программы сохранения и разведения амфибий – наиболее уязвимой группы позвоночных. Ключевой проблемой при применении вспомогательных репродуктивных технологий у бесхвостых амфибий остается асинхронность созревания гамет у самцов и самок, которую можно нивелировать разработкой эффективных протоколов хранения спермы. В настоящем обзоре обобщены и проанализированы результаты исследований, посвященных влиянию антибиотиков на сохранность сперматозоидов бесхвостых амфибий при гипотермическом хранении (0 – 5°C). Показано, что первоначальные неудачи при использовании антибиотиков для хранения уринальной спермы бесхвостых амфибий были связаны с использованием высоких, токсичных для сперматозоидов концентраций антибиотиков (1 – 4 мг/мл). Установлено, что применение антибиотиков широкого спектра действия (гентамицин, стрептомицин, энрофлоксацин) в более низких дозах (до 1 мг/мл) способствует подавлению бактериального роста и значительному увеличению продолжительности жизни сперматозоидов – до 1.5 месяцев для *Rana temporaria* и 2 недель для *Bufo bufo*, с сохранением их подвижности и оплодотворяющей способности. Наиболее эффективным из изученных препаратов признан гентамицин в концентрациях 0.1 – 0.4 мг/мл. Дальнейшие перспективы исследований по гипотермическому хранению уринальной спермы амфибий включают оптимизацию протоколов хранения с учетом видовых особенностей, поиск новых нетоксичных антимикробных агентов и изучение комбинированных препаратов антибиотиков.

Ключевые слова: амфибии, сперматозоиды, репродуктивные технологии, краткосрочное хранение, антибиотики, гентамицин

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Министерства высшего образования и науки Российской Федерации в рамках государственного задания Института биофизики клетки РАН (№ 075-00609-24-02).

Образец для цитирования: Каурова С. А., Шишова Н. В., Утешев В. К. 2026. Гипотермическое хранение уринальной спермы бесхвостых амфибий с антибиотиками: современное состояние проблемы // Современная герпетология. Т. 26, вып. 1/2. С. 52 – 58. <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2026-26-1-2-52-58>, EDN: SYERPW

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Введение. Изменение климата, условий окружающей среды, разрушение экосистем и бактериальные инфекции негативно влияют на выживаемость амфибий. Это привело к значительному сокращению их количества и видового разнообразия. Так, согласно данным Международного союза охраны природы, в настоящее время около 41% всех видов амфибий находятся под угрозой исчезновения (IUCN, 2025). В этой ситуации особую значимость приобретают программы сохранения, в

которых ключевую роль играют вспомогательные репродуктивные технологии (Kouba et al., 2009; Ananjeva et al., 2017; Uteshev et al., 2023; Browne et al., 2024). Одним из основных препятствий для их широкого применения у бесхвостых амфибий служит асинхронность получения гамет от самцов и самок и значительное бактериальное загрязнение образцов уринальной спермы (т.н. «спермической урины» или «спермальной мочи»). Решением этой проблемы может стать разработка надежных про-

[✉] Для корреспонденции. Лаборатория криобиологии Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук».

ORCID и e-mail адреса: Каурова Светлана Анатольевна: <https://orcid.org/0000-0002-2298-1597>, sakaurova@mail.ru; Шишова Наталья Владимировна: <https://orcid.org/0000-0001-8449-0286>, cryopreservation@list.ru; Утешев Виктор Константинович: <https://orcid.org/0000-0002-4357-7577>, uteshev-cryobank@mail.ru

токолов хранения спермы. Развитие и совершенствование репродуктивных технологий, таких как криоконсервация сперматозоидов и краткосрочное хранение в гипотермических условиях (при температуре 0 – 5°C), способствуют решению проблемы асинхронности при получении гамет от самцов и самок путем увеличения продолжительности жизни сперматозоидов с целью использования их для искусственного оплодотворения (Browne et al., 2019; Anastas et al., 2023). К сожалению, криоконсервация сперматозоидов амфибий еще не получила широкого применения из-за низкой жизнеспособности клеток после замораживания и необходимости использования сложного и дорогостоящего оборудования. В связи с этим особое внимание уделяется гипотермическому хранению сперматозоидов амфибий, которое позволяет сохранять жизнеспособность сперматозоидов в течение 6 – 15 дней и более, что достаточно для наступления овуляции у самки (Kouba et al., 2009; Keogh et al., 2017; Anastas et al., 2023).

Несмотря на достигнутые успехи в области гипотермического хранения спермы амфибий, до последнего времени оставалась нерешенной проблема негативного влияния, оказываемого значительным бактериальным загрязнением образцов уринальной спермы, на жизнеспособность и продолжительность жизни сперматозоидов. Бактериальное загрязнение уринальной спермы амфибий является следствием физиологии и строения репродуктивной системы данных животных. Сперматозоиды из семенников попадают в конечном счете в клоаку, которая колонизируется бактериями из мочевыводящих путей и фекалий. Вследствие этого образцы спермы, полученные с помощью гормональной индукции спермиации, имеют большее разнообразие и обилие бактерий по сравнению с образцами спермы, полученными с помощью мацерации семенников (Keogh et al., 2017; Anastas et al., 2024). С целью снижения бактериального загрязнения образцов уринальной спермы амфибий и продления жизнеспособности сперматозоидов в процессе гипотермического хранения могут быть использованы антибиотики, которые успешно применяются для хранения спермы представителей других таксонов животных (Saad et al., 1988; Rahimi et al., 2015; Santos et al., 2021). Однако исследований по влиянию антибиотиков на сперму амфибий крайне мало.

Цель настоящего обзора – обобщить и проанализировать имеющиеся данные о влиянии

антибиотиков на выживаемость уринальных сперматозоидов бесхвостых амфибий в условиях гипотермического хранения, а также оценить перспективы и риски данного метода.

Влияние антибиотиков на хранение спермы амфибий. К настоящему времени влияние антибиотиков на сперму амфибий представлено только в семи исследованиях на пяти видах бесхвостых амфибий: трех видах лягушек – *Litoria booroolongensis* (Silla et al., 2015; Keogh et al., 2017), *Rana temporaria* (Kaurova et al., 2022; Kaurova et al., 2024a), *Crinia signifera* (Anastas et al., 2024), а также двух видах жаб – *Bufo fowleri* (Germano et al., 2013) и *Bufo bufo* (Kaurova et al., 2024b). При этом в одном исследовании изучалось влияние антибиотиков на тестикулярную сперму, полученную путем мацерации семенников (Silla et al., 2015), в пяти – на уринальную сперму, полученную в результате гормональной индукции спермиации и одном исследовании – на оба вида спермы (Keogh et al., 2017).

В первых исследованиях по изучению влияния антибиотиков на сперматозоиды бесхвостых амфибий сообщалось об их негативном влиянии. Так, показано, что если через сутки гипотермического хранения подвижность уринальных сперматозоидов жабы *B. fowleri*, обработанных раствором пенициллина-стрептомицина, была сопоставима с контрольными образцами (51 и 57% соответственно), то в течение последующих 2 – 4 дней хранения проявлялось негативное влияние раствора антибиотика – значительно снижалось количество живых сперматозоидов (Germano et al., 2013). Silla с соавторами продемонстрировали ингибирующее влияние антибиотика гентамицина в концентрации 4 мг/мл на подвижность тестикулярных сперматозоидов лягушки *L. booroolongensis* (Silla et al., 2015). Keogh с соавторами продолжили изучение влияния гентамицина в концентрациях 1, 2, 3 и 4 мг/мл на изменение количества бактерий в образцах мацерата семенников (тестикулярная сперма) и в образцах спермальной мочи лягушки *L. booroolongensis* во время их хранения в холодильнике, а также на подвижность сперматозоидов. Авторами показано, что гентамицин в средних и высоких дозах (2, 3 и 4 мг/мл) значительно снижал количество бактерий в образцах как мацерата семенников, так и в образцах спермальной мочи. Кроме того, установлено, что наиболее низкая подвижность сперматозоидов наблюдалась при самых высоких дозах (3 и 4 мг/мл) антибиотика, в то время как при использовании

концентраций 1 и 2 мг/мл в опытных образцах и в контроле результаты были статистически сопоставимы, а подвижность сперматозоидов составляла >55%. Авторы не выявили различий в подвижности или скорости сперматозоидов при обработке гентамицином в любой дозе. В данной работе сделан вывод о том, что антибактериальная терапия не привела к прогнозируемому увеличению продолжительности жизни сперматозоидов (Keogh et al., 2017).

Первоначальные неудачные попытки увеличения продолжительности жизни уринальных сперматозоидов бесхвостых амфибий в процессе гипотермического хранения, по-видимому, связаны с использованием высоких, токсичных для сперматозоидов, доз антибиотиков. Применение средних и высоких доз антибиотиков для хранения спермы амфибий в ранних работах обусловлено, по всей вероятности, необходимостью минимизации негативного влияния на сперматозоиды большого числа микроорганизмов, присутствующих в уринальной сперме бесхвостых амфибий. Однако, вместе с подавлением микробиоты уринальной спермы, происходило угнетение митохондриальной функции сперматозоидов и подавление их подвижности. Germano с соавторами при выборе концентрации антибиотика ориентировался на литературные данные по кратковременному хранению спермы рыб (Germano et al., 2013). Однако, несмотря на то, что рыбы и амфибии (в большем своем числе) относятся к водным видам с наружным оплодотворением, состав микробиоты кишечника только головастиков аналогичен беспозвоночным или рыбам, в то время как микробиота кишечника взрослых лягушек напоминает таковую амфиот (млекопитающих, птиц, рептилий) и в значительной степени отличается от рыб (Kohl et al., 2013; Colombo et al., 2015). Возможно, вследствие этого, применение антибиотиков для гипотермического хранения спермы амфибий в концентрациях, используемых иногда в репродуктивных технологиях некоторых видов рыб, не оправдало своих ожиданий – данные концентрации оказались токсичными для сперматозоидов бесхвостых амфибий (Germano et al., 2013). Возможно, это также связано с видоспецифической реакцией уринальных сперматозоидов жабы *B. fowleri* на антибиотик, либо с характеристиками и свойствами конкретного антибиотика, что требует дополнительного изучения.

Применение антибиотиков в более низких концентрациях, обычно используемых в репро-

дуктивных технологиях млекопитающих, принесло положительные результаты в области хранения уринальной спермы бесхвостых амфибий двух семейств – Ranidae и Bufonidae (Kaurova et al., 2022, 2024a, b). Одновременно с частичным подавлением бактериального загрязнения уринальной спермы травяной лягушки *R. temporaria* в процессе гипотермического хранения образцов с гентамицином не происходило подавления подвижности сперматозоидов и их оплодотворяющей способности, которая существенно не отличалась от свежеполученных сперматозоидов (Kaurova et al., 2022). Положительное влияние на увеличение продолжительности жизни сперматозоидов в процессе гипотермического хранения уринальной спермы бесхвостых амфибий оказали антибиотики широкого спектра действия, такие как гентамицин и энрофлоксацин, причем гентамицин показал себя наиболее эффективным среди проанализированных антибиотиков. В результате изучения дозозависимого влияния гентамицина на длительное гипотермическое хранение уринальных сперматозоидов травяной лягушки *R. temporaria* в диапазоне концентраций 0.015 – 4.0 мг/мл установлено, что самые высокие абсолютные процентные показатели общей подвижности сперматозоидов наблюдались при использовании гентамицина в концентрациях 0.1 и 0.2 мг/мл. В этом случае сперматозоиды сохраняли подвижность до 1.5 месяцев. Применение гентамицина в более высоких концентрациях (1 – 4 мг/мл), также, как показано ранее другими авторами, либо не оказывало влияния на увеличение жизнеспособности сперматозоидов амфибий в процессе гипотермического хранения, либо имело ярко выраженный негативный эффект.

Наряду с гентамицином, положительное влияние на поддержание подвижности уринальных сперматозоидов *R. temporaria* в процессе гипотермического хранения оказал также другой аминогликозид – стрептомицин (Kaurova et al., 2024a). Авторами установлено, что данный антибиотик во всех анализируемых концентрациях (0.1, 0.2, 0.4 и 1 мг/мл) проявлял схожее с гентамицином положительное влияние, а подвижность сперматозоидов в некоторых образцах сохранялась до 45 – 48 дней. Тем не менее, сравнительный анализ эффективности аминогликозидов гентамицина и стрептомицина в концентрациях 0.05 – 0.2 мг/мл показал, что стрептомицин уступал по эффективности гентамицину. Сперматозоиды, обработанные гентамицином, де-

монстрировали в процессе хранения достоверно более высокие процентные показатели подвижности, чем сперматозоиды, обработанные стрептомицином (Kaurova et al., 2024a). Наиболее отчетливо преимущество гентамицина над стрептомицином проявлялось при хранении образцов уринальной спермы с не высокой бактериальной обсемененностью. Кроме того, в данной работе выявлена прямая корреляция между исходной концентрацией сперматозоидов в образцах уринальной спермы и продолжительностью жизни сперматозоидов в процессе гипотермического хранения образцов с антибиотиками.

Положительное влияние гентамицина в процессе гипотермического хранения образцов уринальной спермы бесхвостых амфибий также продемонстрировано в отношении уринальных сперматозоидов представителя семейства Bufonidae – обыкновенной серой жабы *B. bufo* (Kaurova et al., 2024b). Установлено, что гентамицин в концентрациях 0.05 – 0.4 мг/мл, оказывал положительное влияние на поддержание подвижности сперматозоидов жабы в процессе гипотермического хранения, а гентамицин в концентрации 1 мг/мл так же, как и в отношении уринальных сперматозоидов травяной лягушки, негативно влиял на подвижность сперматозоидов. Кроме того, показано, что после двухнедельного хранения образцов уринальной спермы жабы с гентамицином в концентрациях 0.05 – 0.4 мг/мл, наибольшее количество сперматозоидов сохранялось при использовании гентамицина в концентрации 0.4 мг/мл.

Помимо изучения влияния антибиотиков на подвижность сперматозоидов, некоторыми авторами анализировалась их жизнеспособность по состоянию клеточных мембран. Так, в исследовании Anastas с соавторами продемонстрировано положительное влияние антибиотиков на повышение жизнеспособности уринальных сперматозоидов лягушки *C. signifera* (оценка методом флуоресцентного окрашивания), а также на снижение количества микроорганизмов в образцах спермы (Anastas et al., 2024). Авторы отмечают, что в результате 12-дневного хранения образцов уринальной спермы с антибиотиками гентамицином (1 мг мл⁻¹), либо стрептомицинипенициллином (1 мг мл⁻¹ + 1000 МЕ мл⁻¹), минимизировалось размножение бактерий, а также отмечалось улучшение жизнеспособности сперматозоидов в сравнении с контрольными образцами без обработки антибиотиками (30 и 10% соответственно).

Таким образом, анализ литературных данных выявляет четкую закономерность: успех холодового хранения уринальной спермы амфибий с антибиотиками критически зависит от дозировки. Высокие концентрации антибиотика (≥ 1 мг/мл), эффективные для подавления микробиоты уринальной спермы, токсичны для сперматозоидов. Напротив, использование более низких доз антибиотиков (0.1 – 0.4 мг/мл) широкого спектра действия, особенно гентамицина, позволяет достичь баланса между антибактериальным эффектом и сохранением функциональности уринальных сперматозоидов бесхвостых амфибий, значительно увеличивая сроки их хранения.

Заключение. Проведенный анализ свидетельствует о значительном прогрессе в области гипотермического хранения уринальной спермы бесхвостых амфибий. Доказано, что использование антибиотиков широкого спектра действия (гентамицин, стрептомицин, энрофлоксацин) в оптимальных, относительно низких концентрациях позволяет эффективно подавлять бактериальную контаминацию уринальной спермы и увеличивать продолжительность жизни сперматозоидов до нескольких недель и даже месяцев, сохраняя их подвижность и оплодотворяющую способность. Наибольшую эффективность в изученных видах продемонстрировал гентамицин в диапазоне концентраций 0.1 – 0.4 мг/мл.

Хранение уринальной спермы бесхвостых амфибий с антибиотиками является перспективной технологией по многим причинам. Во-первых, из-за продемонстрированной эффективности низких доз антибиотиков в отношении сперматозоидов и ооцитов (Kaurova et al., 2022). Антибиотики оказывают минимальное влияние на ооциты в процессе кратковременного оплодотворения (не более 30 минут), а последующая многократная отмывка оплодотворенных ооцитов от спермы водой и развитие эмбрионов вне сред с антибиотиками (в отличие от видов с внутренним оплодотворением) минимизирует возможное негативное влияние на них антибиотиков. Во-вторых, холодовое хранение уринальной спермы амфибий с антибиотиками может успешно применяться не только для развития репродуктивных технологий хранения и оплодотворения *in vitro*, но также являться важным инструментом для снижения передачи патогенов при транспортировке генетического материала между учреждениями. В-третьих, кратковременное хранение уринальных сперматозоидов с ис-

пользованием антибиотиков также может быть использовано в качестве метода седиментации для естественного повышения концентрации сперматозоидов у видов с изначально низкой концентрацией сперматозоидов в уринальной сперме с целью их последующего криобанкирования.

Возможной стратегией повышения антимикробной эффективности антибиотиков является применение комбинированных антибактериальных препаратов, показавших ранее свою эффективность в отношении сперматозоидов млекопитающих. Дальнейшие исследования в области гипотермического хранения уринальной спермы амфибий с антибиотиками должны ориентироваться на изучение видовой специфичности и поиск новых эффективных антимикробных препаратов (например, бактериофагов). Кроме того, исследования должны быть направлены на оптимизацию протоколов хранения спермы, изучение влияния состава сред и условий хранения на подвижность, оплодотворяющую способность, целостность ДНК сперматозоидов, а также развитие эмбрионов и личинок. Необходимо также исследование долгосрочных экологических последствий использования антибиотиков в программах сохранения видов. Решение этих задач позволит превратить метод гипотермического хранения с антибиотиками в надежный, безопасный и стандартизированный инструмент в решении задачи сохранения биоразнообразия амфибий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Ananjeva N. B., Uteshev V. K., Orlov N. L., Ryabov S. A., Gakhova E. N., Kaurova S. A., Kramarova L. I., Shishova N. V., Browne R. K. Comparison of the modern reproductive technologies for amphibians and reptiles. *Russian Journal of Herpetology*, 2017, vol. 24, no. 4, pp. 275–290. <https://doi.org/10.30906/1026-2296-2017-24-4-275-290>
- Anastas Z. M., Byrne P. G., Silla A. J. Characterisation of the urinary microbiome of a frog, and the effect of antibiotics on bacterial abundance and sperm viability during refrigerated storage. *Frontiers in Amphibian and Reptile Science*, 2024, vol. 2, art. 1329888. <https://doi.org/10.3389/famrs.2024.1329888>
- Anastas Z. M., Byrne P. G., O'Brien J. K., Hobbs R. J., Upton R., Silla A. J. The increasing role of short-term sperm storage and cryopreservation in conserving threatened amphibian species. *Animals*, 2023, vol. 13, no. 13, art. 2094. <https://doi.org/10.3390/ani13132094>
- Browne R. K., Silla A. J., Upton R., Della-Togna G., Marcec-Greaves R., Shishova N. V., Uteshev V. K., Proaño B., Pérez O. D., Mansour N., Kaurova S. A., Gakhova E. N., Cosson J., Dyzyuba B., Kramarova L. I., McGinnity D., Gonzalez M., Clulow J., Clulow S. Sperm collection and storage for the sustainable management of amphibian biodiversity. *Theriogenology*, 2019, vol. 133, pp. 187–200. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.03.035>
- Browne R. K., Luo Q., Wang P., Mansour N., Kaurova S. A., Gakhova E. N., Shishova N. V., Uteshev V. K., Kramarova L. I., Venu G., Bagaturov M. F., Vaissi S., Heshmatzad P., Janzen P., Swegen A., Strand J., McGinnity D. The sixth mass extinction and amphibian species sustainability through reproduction and advanced biotechnologies, biobanking of germplasm and somatic cells, and conservation breeding programs (RBCs). *Animals*, 2024, vol. 14, no. 23, art. 3395. <https://doi.org/10.3390/ani14233395>
- Colombo B. M., Scalvenzi T., Benlamara S., Pollet N. Microbiota and mucosal immunity in amphibians. *Frontiers in Immunology*, 2015, vol. 6, art. 111. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00111>
- Germano J. M., Arregui L., Kouba A. J. Effects of aeration and antibiotics on short-term storage of Fowler's toad (*Bufo fowleri*) sperm. *Aquaculture*, 2013, vol. 396–399, pp. 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.02.018>
- IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species). Version 2024-2. 2024. Available at: <https://www.iucnredlist.org> (accessed January 17, 2025).
- Kaurova S. A., Browne R. K., Uteshev V. K. Antibiotics for the refrigerated storage at 4°C of hormonally induced European common frog (*Rana temporaria*) spermatozoa. *Theriogenology Wild*, 2022, vol. 1, art. 100009. <https://doi.org/10.1016/j.therwi.2022.100009>
- Kaurova S. A., Uteshev V. K., Shishova, N. V. Effect of antibiotics metranidazole, streptomycin, and gentamicin on the maintenance of sperm motility of the European common Frog (*Rana temporaria*) during refrigerated storage. *Russian Journal of Herpetology*, 2024a, vol. 31, no. 1, pp. 47–55. <https://doi.org/10.30906/1026-2296-2024-31-1-47-55>
- Kaurova S. A., Shishova N. V., Uteshev V. K. The effect of gentamicin on the motility of hormonally induced spermatozoa of Toad *Bufo bufo* during storage at 4°C. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2024b, vol. 176, iss. 5, pp. 816–819. <https://doi.org/10.1007/s10517-024-06115-x>
- Keogh L. M., Byrne P. G., Silla A. J. The effect of gentamicin on sperm motility and bacterial abundance during chilled sperm storage in the Booroolong frog. *General and Comparative Endocrinology*, 2017, vol. 243, pp. 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.11.005>
- Kohl K. D., Cary T. L., Karasov W. H., Dearing M. D. Restructuring of the amphibian gut microbiota through metamorphosis. *Environmental Microbiology Reports*, 2013, vol. 5, iss. 6, pp. 899–903. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12092>
- Kouba A. J., Vance C. K. Applied reproductive technologies and genetic resource banking for amphibian

conservation. *Reproduction, Fertility and Development*, 2009, vol. 21, iss. 6, pp. 719–736. <https://doi.org/10.1071/RD09038>

Rahimi R., Hajirezaee S., Shaluei F., Katadj J. K. Antibiotics, penicillin and streptomycin improve semen quality indices of endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler 1870) during *in vitro* short-term storage. *Aquaculture Research*, 2015, vol. 47, iss. 1, pp. 3662–3666. <https://doi.org/10.1111/are.12819>

Saad A., Billard R., Theron M. C., Hollebecq M. G. Short-term preservation of carp (*Cyprinus carpio*) semen. *Aquaculture*, 1988, vol. 71, iss. 1-2, pp. 133–150. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(88\)90280-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(88)90280-3)


Santos C. S., Campos L. B., Praxedes É., Moreira S., Souza-Júnior J., Comizzoli P., Feijó F. M. C., Silva A. R. Influence of antibiotics on bacterial load and sperm parameters during short-term preservation of collared peccary semen. *Animal Reproduction*, 2021, vol. 18, no. 3, art. 20210021. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2021-0021>

Silla A. J., Keogh L. M., Byrne P. G. Antibiotics and oxygen availability affect the short-term storage of spermatozoa from the critically endangered booroolong frog, *Litoria booroolongensis*. *Reproduction, Fertility and Development*, 2015, vol. 27, iss. 8, pp. 1147–1153. <https://doi.org/10.1071/RD14062>

Upton R., Calatayud N. E., Clulow S., Brett D., Burton A. L., Colyvas K., Mahony M., Clulow J. Refrigerated storage and cryopreservation of hormonally induced sperm in the threatened frog, *Litoria aurea*. *Animal Reproduction Science*, 2024, vol. 262, art. 107416. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2024.107416>

Uteshev V. K., Gakhova E. N., Kramarova L. I., Shishova N. V., Kaurova S. A., Kidova E. A., Kidov A. A., Browne R. K. Russian collaborative development of reproduction technologies for the sustainable management of amphibian biodiversity. *Asian Herpetological Research*, 2023, vol. 14, no.1, pp. 103–115. <https://doi.org/10.16373/j.cnki.ahr.220043>

Hypothermic storage of spermic urine of anurans with antibiotics: Current state of the problem

S. A. Kaurova , N. V. Shishova, V. K. Uteshev

*Institute of Cell Biophysics RAS – A Separate Subdivision of Federal Research Centre
“Pushchino Scientific Centre for Biological Research RAS”
3 Institutskaya St., Pushchino 142290, Moscow region, Russia*

Article info

Short Communication

<https://doi.org/10.18500/1814-6090-2026-26-1-2-52-58>
EDN: SYERPW

Received February 19, 2025,
revised August 18, 2025,
accepted March 5, 2026

Abstract: In the context of the sixth mass extinction of animals, programs for the conservation and breeding of amphibians – one of the most vulnerable groups of vertebrates – have become particularly relevant. A key challenge in the application of assisted reproductive technologies in anurans is the asynchronous maturation of gametes between males and females, which could be mitigated by developing effective sperm storage protocols. This review summarizes and analyzes research findings on the effects of antibiotics on the preservation of anuran spermatozoa during hypothermic storage (0–5°C). It has been shown that initial failures in the use of antibiotics for storing spermic urine were due to high concentrations toxic to spermatozoa (1–4 mg/ml). The application of broad-spectrum antibiotics, such as gentamicin, streptomycin, and enrofloxacin, at lower doses (below 1 mg/ml) was found to suppress bacterial growth and significantly increase the viability of spermatozoa – up to 1.5 months for *Rana temporaria* and 2 weeks for *Bufo bufo*, while maintaining their motility and fertilizing capacity. Gentamicin at concentrations within 0.1–0.4 mg/ml proved to be the most effective among the studied drugs. Future perspectives include optimizing storage protocols to account for species-specific characteristics, identifying new non-toxic antimicrobial agents, and investigating combined antibiotic formulations.

Keywords: amphibians, spermatozoa, reproductive technologies, short-term storage, antibiotics, gentamicin

Funding: This work was supported by the Ministry of Higher Education and Science of the Russian Federation as part of a government-funded project of the Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences (No. 075-00609-24-02).

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

For citation: Kaurova S. A., Shishova N. V., Uteshev V. K. Hypothermic storage of spermic urine of anurans with antibiotics: Current state of the problem. *Current Studies in Herpetology*, 2026, vol. 26, iss. 1–2, pp. 52–58 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2026-26-1-2-52-58>, EDN: SYERPW

 *Corresponding author.* Laboratory of Cryobiology, Institute of Cell Biophysics RAS – A Separate Subdivision of Federal Research Centre “Pushchino Scientific Centre for Biological Research RAS”, Russia.

ORCID and e-mail addresses: Svetlana A. Kaurova: <https://orcid.org/0000-0002-2298-1597>, sakaurova@mail.ru; Natalya V. Shishova: <https://orcid.org/0000-0001-8449-0286>, cryopreservation@list.ru; Viktor K. Uteshev: <https://orcid.org/0000-0002-4357-7577>, uteshev-cryobank@mail.ru