



XVI международная научно-практическая конференция  
«НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ,  
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ И ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ  
БЕЗОПАСНОСТИ» 15-17 июня 2022 г., Краснодар

# ОБРАТИМЫЙ БИОСТАЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ КЛЕТОК САМЦОВ КАК ФОРМА СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ

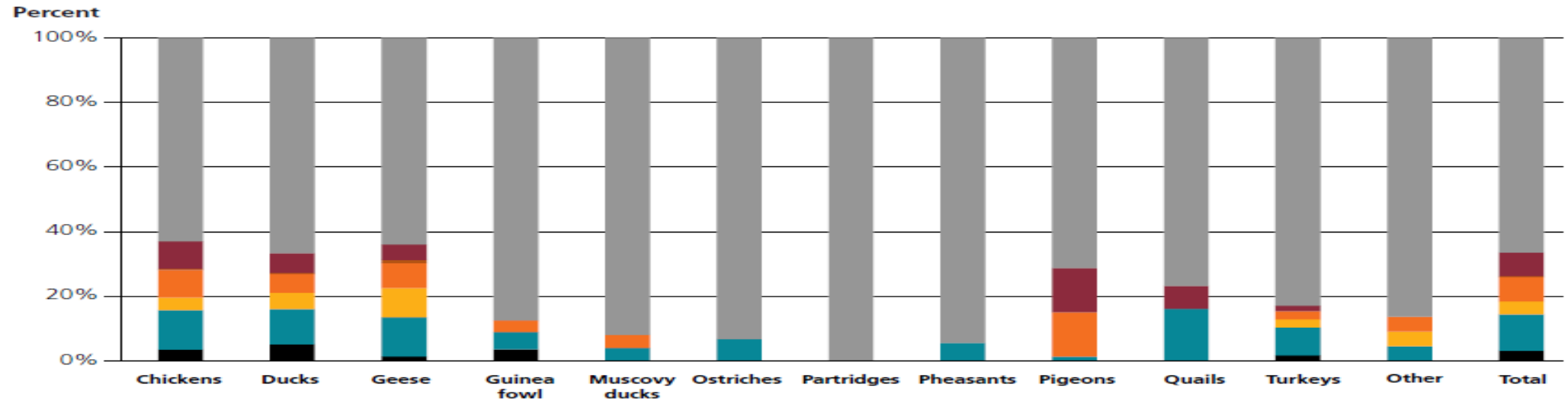
**Станишевская Ольга Игоревна**

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И РАЗВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ – ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ЖИВОТНОВОДСТВА – ВИЖ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Л. К. ЭРНСТА»

[olgastan@list.ru](mailto:olgastan@list.ru)



# СОСТОЯНИЕ МИРОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПТИЦ



## RISK STATUS

	Chickens	Ducks	Geese	Guinea fowl	Muscovy ducks	Ostriches	Partridges	Pheasants	Pigeons	Quails	Turkeys	Other	Total
Unknown	1 089	196	133	49	23	14	12	17	52	43	97	19	1 744
Critical	147	18	10	0	0	0	0	0	10	4	2	0	191
Critical-maintained	7	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Endangered	147	17	16	2	1	0	0	0	10	0	3	1	197
Endangered-maintained	67	15	19	0	0	0	0	0	0	0	3	1	105
Not at risk	212	32	25	3	1	1	0	1	1	9	10	1	296
Extinct	60	15	3	2	0	0	0	0	0	0	2	0	82
<b>Total</b>	<b>1 729</b>	<b>294</b>	<b>208</b>	<b>56</b>	<b>25</b>	<b>15</b>	<b>12</b>	<b>18</b>	<b>73</b>	<b>56</b>	<b>117</b>	<b>22</b>	<b>2 625</b>

Note: "Other" refers to duck × Muscovy duck crosses, Chilean tinamous, cassowaries, emus, ñandus, peacocks and swallows.

Source: DAD-IS (accessed July 2014).

# В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ В МИРЕ СУЩЕСТВУЮТ ДВА ОСНОВНЫХ МЕТОДА СОХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДА МАЛОЧИСЛЕННЫХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ПОРОД ЖИВОТНЫХ, В ТОМ ЧИСЛЕ И ПТИЦЫ:

1. Сохранение животных в живом разведении в генофондных хозяйствах и на коллекционных фермах (*ex situ in vivo*).



2. Сохранение репродуктивного материала в состоянии биостаза (*in vitro*).





**Биостаз** (biostasis) [греч. bio(s) — жизнь и stasis — неподвижность, остановка, застой] — способность живых организмов противостоять изменениям окружающей среды без адаптации к этим изменениям.

В криптобиотическом состоянии (в состоянии биостаза) все измеримые метаболические процессы останавливаются.

Когда условия окружающей среды снова становятся благоприятными, организм возвращается в свое метаболическое состояние жизни, каким оно было до криптобиоза.

# ФОРМЫ КРИПТОБИОЗА, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ СОХРАНЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ

**КРИОБИОЗ** - ЭТО ФОРМА КРИПТОБИОЗА, КОТОРАЯ ВОЗНИКАЕТ В РЕЗУЛЬТАТЕ СНИЖЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ. СОСТОЯНИЕ КРИОБИОЗА ДОСТИГАЕТСЯ, КОГДА ВОДА, ОКРУЖАЮЩАЯ КЛЕТКИ, ЗАМОРАЖИВАЕТСЯ, ПРЕКРАЩЕНИЕ ПОДВИЖНОСТИ МОЛЕКУЛ ПОЗВОЛЯЕТ ОРГАНИЗМУ ВЫДЕРЖИВАТЬ ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ДО ТЕХ ПОР, ПОКА НЕ ВЕРНУТСЯ БОЛЕЕ БЛАГОПРИЯТНЫЕ УСЛОВИЯ.

ОРГАНИЗМЫ, СПОСОБНЫЕ ВЫДЕРЖИВАТЬ ЭТИ УСЛОВИЯ, ОБЫЧНО ИМЕЮТ МОЛЕКУЛЫ, КОТОРЫЕ СПОСОБСТВУЮТ ЗАМОРАЖИВАНИЮ ВОДЫ В ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ МЕСТАХ, А ТАКЖЕ ПРЕПЯТСТВУЮТ РОСТУ КРУПНЫХ КРИСТАЛЛОВ ЛЬДА, КОТОРЫЕ В ПРОТИВНОМ СЛУЧАЕ МОГУТ ПОВРЕДИТЬ КЛЕТКИ.

**КРИОКОНСЕРВАЦИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ КЛЕТОК, ПРИМОРДИАЛЬНЫХ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК (PGC), ЭМБРИОНОВ**

**АНГИДРОБИОЗ** ЯВЛЯЕТСЯ ФОРМОЙ КРИПТОБИОЗА, ВОЗНИКАЕТ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ СИТУАЦИЯХ, СВЯЗАННЫХ С ВЫСЫХАНИЕМ.

ТЕРМИН АНГИДРОБИОЗ ПРОИСХОДИТ ОТ ГРЕЧЕСКОГО СЛОВА «ЖИЗНЬ БЕЗ ВОДЫ» И ЧАЩЕ ВСЕГО ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ ОБОЗНАЧЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К ВЫСЫХАНИЮ.

**СУБЛИМАЦИОННАЯ СУШКА СПЕРМАТОЗОИДОВ (ЛИОФИЛИЗАЦИЯ)**

# КРИБАНКИ И ИХ ВКЛАД В СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ.

- **ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ ИСЧЕЗНОВЕНИЯ ПОРОД** ИЗ-ЗА ЭКСТРЕМАЛЬНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ, ТАКОГО КАК МАЛАЯ ЧИСЛЕННОСТЬ ПОРОДЫ/ПОПУЛЯЦИИ, ВЫСОКАЯ ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ ИНТЕНСИВНОЙ СЕЛЕКЦИИ И ГЕНЕТИЧЕСКОГО ДРЕЙФА
- **ИСТОЧНИК ГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗНООБРАЗНОЙ И СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ДНК.** СОХРАНЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ, ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ГЕНОМНЫМ АССОЦИАЦИЯМ, ИССЛЕДОВАНИЙ ФУНКЦИИ ГЕНОВ И ДРУГИХ ВИДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ
- ГЕНЕТИЧЕСКИЕ БАНКИ МОГУТ ПРЕДОСТАВЛЯТЬ ОБРАЗЦЫ ОТ РАЗНЫХ ПОКОЛЕНИЙ, ЧТО СПОСОБСТВУЕТ **ПОВЫШЕНИЮ ТОЧНОСТИ ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ.** (ПРИ УСЛОВИИ, ЧТО ИНФОРМАЦИЯ БУДЕТ КАТАЛОГИЗИРОВАНА С УЧЕТОМ ФЕНОТИПА И ГЕНОТИПА, ПРОВЕДЕНА ГЕНОМНАЯ ПАСПОРТИЗАЦИЯ ЗАКЛАДЫВАЕМЫХ ОБРАЗЦОВ)
- ПРЕИМУЩЕСТВОМ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ *IN VITRO* В КРИБАНКАХ ЯВЛЯЕТСЯ **ЭКОНОМИЧЕСКАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ**
- ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО БАНКА ДОЛЖНА ЗАКЛЮЧАТЬСЯ НЕ ТОЛЬКО В ПОЛУЧЕНИИ И СОХРАНЕНИИ РЕЗЕРВНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА, НО И В АКТИВНОМ СОТРУДНИЧЕСТВЕ С КОЛЛЕКЦИЯМИ В ЖИВОМ РАЗВЕДЕНИИ ДЛЯ **РАСШИРЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПРИ СОХРАНЕНИИ *EX SITU IN VIVO*.**

## СОСТОЯНИЕ МИРОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ С.-Х. ПТИЦ, СОХРАНЯЕМЫХ IN VITRO

Регион	Доля национальных пород, сохраняемых в генетических банках, %		
	Статус	КРС	Птица
Африка	законсервировано	12	2
	достаточно материала	8	2
Азия	законсервировано	32	19
	достаточно материала	15	10
Европа и Кавказ	законсервировано	40	5
	достаточно материала	23	3
Латинская Америка и Карибы	законсервировано	15	0
	достаточно материала	12	0
Северная Америка	законсервировано	74	25
	достаточно материала	33	3
Ближний и Средний Восток	законсервировано	4	0
	достаточно материала	4	0
Мир	законсервировано	27	6
	достаточно материала	16	3

Источник: FAO, Country reports, 2014

# **КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СЕМЕНИ ПТИЦ – ПЛЮСЫ:**

**МЕНЕЕ ЗАТРАТНЫЙ СПОСОБ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПО СРАВНЕНИЮ С  
МЕТОДОМ СОХРАНЕНИЯ  
*IN VIVO***

**РАЗРАБОТАНЫ МНОГОЧИСЛЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЗАМОРАЖИВАНИЯ СЕМЕНИ (В ГРАНУЛАХ, В ПАЙЕТАХ,  
НА ФТОРОПЛАСТОВОЙ ПЛАСТИНЕ, В ТОНКОМ СЛОЕ) И ОТТАИВАНИЯ (В ВОДЯНОЙ БАНЕ, НА  
МЕТАЛЛИЧЕСКОЙ ПЛАСТИНЕ), ВКЛЮЧАЯ «МЕДЛЕННЫЕ» И «БЫСТРЫЕ ПРОТОКОЛЫ»**

**ПРАКТИЧЕСКИ ЕДИНСТВЕННЫЙ НА СЕГОДНЯШНИЙ ДЕНЬ «РАБОТАЮЩИЙ» МЕТОД СОХРАНЕНИЯ  
ГЕНОФОНДА *IN VITRO***



# ПРОБЛЕМЫ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СЕМЕНИ С.-Х. ПТИЦ, ТРЕБУЮЩИЕ РЕШЕНИЯ:

СУЩЕСТВУЮЩИЕ НА СЕГОДНЯШНИЙ ДЕНЬ МЕТОДЫ СОХРАНЕНИЯ ТОЛЬКО РЕПРОДУКТИВНЫХ КЛЕТОК САМЦОВ ПТИЦ (СПЕРМИЕВ) ПОЗВОЛЯЮТ ВОССТАНАВЛИВАТЬ ИСЧЕЗАЮЩИЕ ПОРОДЫ/ПОПУЛЯЦИИ ТОЛЬКО ЗА СЧЕТ ПОГЛОТИТЕЛЬНОГО СКРЕЩИВАНИЯ; ПРОИСХОДИТ ПОТЕРЯ МАТЕРИНСКОЙ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ, ВКЛЮЧАЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ (FULTON, 2006).

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ЗАПУСКАЕТ НЕ ТОЛЬКО ПРОЦЕССЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ МЕМБРАН НА МЕХАНИЧЕСКОМ УРОВНЕ, НО И ХИМИКО-ФИЗИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ДЕНАТУРАЦИИ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ БИСЛОЕВ МЕМБРАН, ЧТО ПРИВОДИТ К СУБЛЕТАЛЬНОМУ ЗАМЕРЗАНИЮ И ЗАПУСКУ ПРОЦЕССОВ КРИОКАПАЦИТАЦИИ, ОБРАЗОВАНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВ СПЕРМАТОЗОИДОВ, ЛИПИДОВ И САХАРОВ (PINI ET AL., 2018), ЧТО ВЫРАЖАЕТСЯ В СНИЖЕНИИ ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМИЕВ И РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОХРАНЯЕМОГО МАТЕРИАЛА СНИЖАЕТСЯ НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ПОСТСИНГАМИИ ПО ПРИЧИНЕ ВЫБИТИЯ ОСОБЕЙ С ПОНИЖЕННОЙ КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ РЕПРОДУКТИВНЫХ КЛЕТОК.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОГО СЕМЕНИ ОТ СМЕШАННЫХ ЭЯКУЛЯТОВ ИЗ КРИОБАНКОВ МОЖЕТ ПРИВОДИТЬ К УВЕЛИЧЕНИЮ СТЕПЕНИ ИНБРИДИНГА В ПОПУЛЯЦИИ. ПОСКОЛЬКУ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ВКЛАД КАЖДОГО САМЦА НЕОДИНАКОВ В СВЯЗИ С ЭФФЕКТОМ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ (PLESHANOV ET AL., 2018, 2019).

ЗНАЧИТЕЛЬНАЯ МЕЖПОРОДНАЯ И ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КРИОУСТОЙЧИВОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ; КОЭФФИЦИЕНТ ВАРИАЦИИ (CV) МОЖЕТ ДОСТИГАТЬ 23–25 % (PLESHANOV ET AL., 2018; STANISHEVSKAYA, PLESHANOV, 2018).

ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЗАМОРОЖЕНО/ОТТАЯННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ СНИЖАЕТСЯ НЕ ТОЛЬКО ПОКАЗАТЕЛЬ ИХ ФЕРТИЛЬНОСТИ, НО И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЭМБРИОНОВ.

ОДНОЙ ИЗ ОСНОВНЫХ ПРИЧИН РАННЕЙ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ СМЕРТНОСТИ ЯВЛЯЕТСЯ ПОВРЕЖДЕНИЕ ДНК, ВЫЗВАВШЕЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЯДЕРНЫХ СТРУКТУР СПЕРМАТОЗОИДА (WATSON, 2000; LIPTÓI, NIDAS, 2006).



## ВКЛАД ВНИИГРЖ В СОХРАНЕНИИ ГЕНОФОНДА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПТИЦ МЕТОДАМИ *IN VITRO*

**ВПЕРВЫЕ В РОССИИ СОЗДАЁТСЯ КАТАЛОГИЗИРОВАННЫЙ КРИОБАНК СЕМЕНИ ПЕТУХОВ ГЕНОФОНДНЫХ ПОРОД НА БАЗЕ «ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ПОРОД КУР»**

**РАЗРАБОТАНЫ И ВЕРИФИЦИРОВАНЫ ПРОТОКОЛЫ ЗАМОРАЖИВАНИЯ/ОТТАИВАНИЯ И НОВЫЕ СОСТАВЫ СИНТЕТИЧЕСКИХ СРЕД ДЛЯ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СЕМЕНИ ПЕТУХОВ «МАЛ-20» И «ТРЕН-20» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМБИНАЦИЙ МОНО- И ДИСАХАРИДОВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ СОХРАННОСТЬ ОРГАНОИДОВ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ В ЦИКЛЕ ЗАМОРАЖИВАНИЕ/ОТТАИВАНИЕ И ПОЗВОЛЯЮЩИЕ ПОЛУЧАТЬ ПОКАЗАТЕЛИ ОПЛОДОТВОРЕННОСТИ ЯИЦ НА ВЫСОКОМ (82-86 %) УРОВНЕ.**

**РАЗРАБОТАНЫ И ВЕРИФИЦИРОВАНЫ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СТРУКТУРНОЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПОЛНОЦЕННОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПЕТУХОВ.**



№ кластера	Состав кластера	Дата закладки	Размещение в криобанке	Качество нативной		Качество заморож./оттаян.		Количество доз, ед.	Текущий остаток, ед.	Итого доз	
				концентрация, млрд/мл	% общей подвижности	концентрация, млрд/мл	% общей подвижности			Дата	ФИО, цель
1	X1600	сентябрь 2019	Инвентаризационный номер ланет 19/001	2,7-3,1	90	1,5	40	77	77		
	X1805										
2	X1705	сентябрь 2019	Инвентаризационный номер ланет 19/001	2,2-2,8	85	1,4	50	84	84		
	09186										
1	X1447	сентябрь 2019	Инвентаризационный номер ланет 19/001	2,7-3,1	85	1,5	30	127	127		
	X1759										
4	X1546	сентябрь 2019	Инвентаризационный номер ланет 19/001	2,7-3,1	85	1,5	50	99	99		
	X1551										
5	X1536	сентябрь 2019	Инвентаризационный номер ланет 19/001	2,7-3,1	85	1,5	50	99	99		
	09154										
6	X1991	сентябрь 2019	Инвентаризационный номер ланет 19/001	3,5	90	1,8	40	308	308		
	X1660										
7	X1805	сентябрь 2019	Инвентаризационный номер ланет 19/001	2,8-2,5	80	1	40	68	68		
	X1738										
8	X1705	сентябрь 2019	Инвентаризационный номер ланет 19/001	2,5-2,7	90	1,2	20	61	61		
	X1998										
8	X1998	сентябрь 2019	Инвентаризационный номер ланет 19/001	2,5	80	1,3	30	42	42		
	X1998										
<b>Итого заложено</b>									<b>638</b>		

# ПУБЛИКАЦИИ ВНИИГРЖ



Animal Reproduction Science  
Volume 220, September 2020, 106409



P49


## A method of increasing the fertility of frozen/thawed rooster semen

Olga Stanishevskaya , Yulia Silyukova , Nikolay Pleshchikov, Anton Kurochkin, Elena Fedorova, Zoya Fedorova, Oksana Perinek, Inessa Meftakh, Anatoliy Yakhramov

Show more 

+ Add to Mendeley  Share  Cite

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106409> [Get rights and content](#)



Силокова Ю.Л., Станишевская О.И., Пleshchikov Н.В., Курочкин А.А.

Эффективность использования комбинаций сахаридов в средах для криоконсервации спермы петухов. Сельскохозяйственная биология, 2020, том 55, № 6, с. 1148-1158.

doi: 10.15389/agrobiology.2020.6.1148rus



Article

## Role of Mono- and Disaccharide Combination in Cryoprotective Medium for Rooster Semen to Ensure Cryoresistance of Spermatozoa

Olga Stanishevskaya, Yulia Silyukova , Nikolai Pleshchikov and Anton Kurochkin

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding—Branch of the L.S. Erast Federal Research Center for Animal Husbandry, Pushkin, Moscow Region, Russia, 190625 St. Petersburg, Russia; [olga@niifab.ru](mailto:olga@niifab.ru) (O.S.); [kurochkin@niifab.ru](mailto:kurochkin@niifab.ru) (N.P.); [stanishevskaya@niifab.ru](mailto:stanishevskaya@niifab.ru) (A.K.)

\* Correspondence: [silyuk@niifab.ru](mailto:silyuk@niifab.ru)



Animal Reproduction Science  
Volume 220, September 2020, 106377



P17

## The use of maltose as a component of the medium for cryopreservation of roosters semen

Yulia Silyukova , Olga Stanishevskaya, Nikolay Pleshchikov, Anton Kurochkin

Show more 

+ Add to Mendeley  Share  Cite

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106377> [Get rights and content](#)

ГЕНЕТИКА ЖИВОТНЫХ  
Obstet. / Review

Вестник ВНИИГРЖ. Генетика и селекция, 2020, 4(1): 170-184  
DOI 10.18699/V2020.170

## The current state of the problem of *in vitro* gene pool preservation in poultry

Y.L. Silyukova, O.I. Stanishevskaya , N.V. Derasovskaya

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding—Branch of the L.S. Erast Federal Science Center for Animal Husbandry, Pushkin, St. Petersburg, Russia  
 [olga@niifab.ru](mailto:olga@niifab.ru)



an Open Access Journal by MDPI

## Effects of Saccharides Supplementation in the Extender of Cryopreserved Rooster (*Gallus domesticus*) Semen on the Fertility of Frozen/Thawed Spermatozoa

Olga Stanishevskaya; Yulia Silyukova; Nikolai Pleshchikov; Anton Kurochkin; Elena Fedorova; Zoya Fedorova; Oksana Perinek; Anna Prituzhalova; Inessa Meftakh

Animals 2021, Volume 11, Issue 1, 189



# СУБЛИМАЦИОННАЯ СУШКА РЕПРОДУКТИВНЫХ КЛЕТОК – ИННОВАЦИОННЫЙ МЕТОД СОХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДА ЖИВОТНЫХ

**ЛИОФИЛИЗАЦИЯ СПЕРМЫ**, МОЖЕТ СТАТЬ НОВЫМ ПРОСТЫМ МЕТОДОМ ХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ.

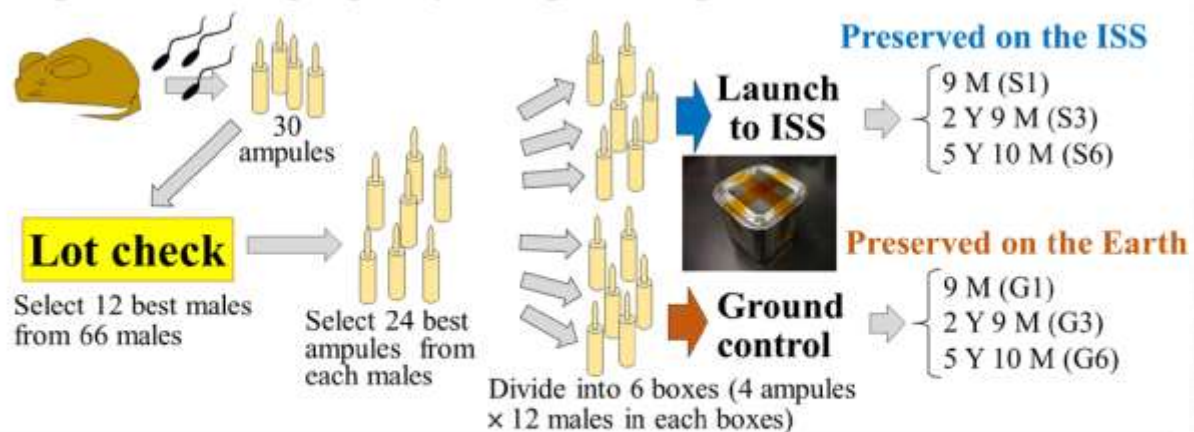
НА ПРОТЯЖЕНИИ ПОСЛЕДНИХ ДЕСЯТИЛЕТИЙ БЫЛИ ПРЕДПРИНЯТЫ МНОГОЧИСЛЕННЫЕ ПОПЫТКИ ДЛЯ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ЛИОФИЛИЗАЦИИ СЕМЕНИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ, ВКЛЮЧАЯ ЛАБОРАТОРНЫХ, ДИКИХ И ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ (КРОЛИКИ, МЫШИ, ХРЯКИ, БАРАНЫ) С РАЗЛИЧНОЙ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬЮ.

ОДНАКО, В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НЕ ИСПОЛЬЗОВАЛИСЬ ПРОТОКОЛЫ ЗАМОРАЖИВАНИЯ СЕМЕНИ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЦЕЛОСТНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ, А БЫЛИ ИСПОЛЬЗОВАНЫ ТЕХНОЛОГИИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ **ЛИШЬ ДНК**.

ПРИМЕНЕНИЕ ТАКИХ ПРОТОКОЛОВ НЕ ПОЗВОЛЯЕТ ПОЛУЧАТЬ СПЕРМАТОЗОИДЫ ПОСЛЕ РЕГИДРАТАЦИИ С СОХРАНЕННЫМ КИНЕТИЧЕСКИМ АППАРАТОМ; ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ЛИОФИЛИЗАЦИИ СЕМЕНИ ПРОВОДЯТСЯ С ЦЕЛЬЮ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ **ICSI** (INTRACYTOPASMIC SPERM INJECTION)



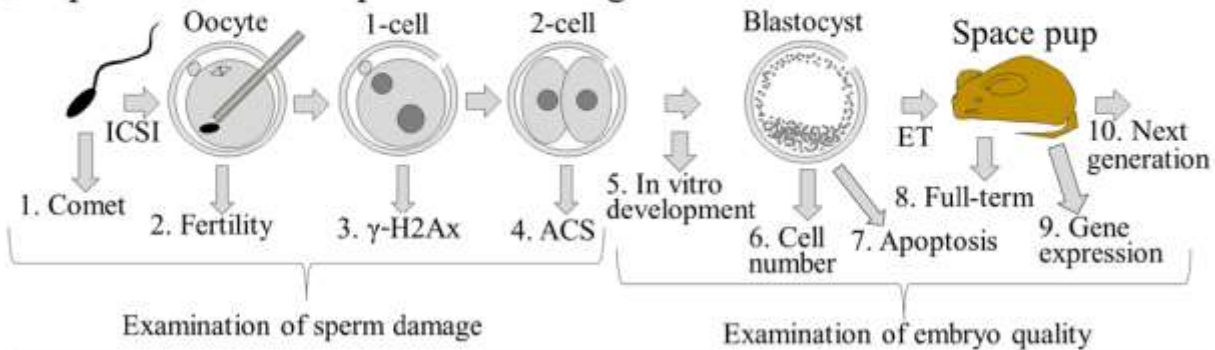
### A Preparation of high-quality FD sperm ampules



### B Ground radiation experiment using x-ray



### C Space radiation experiments using ISS



ICSI: intracytoplasmic sperm injection  
ET: embryo transfer

ОЦЕНКА ДОЛГОСРОЧНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ КОСМИЧЕСКОЙ РАДИАЦИИ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ НОРМАЛЬНОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ХРАНЯЩИХСЯ НА МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ.

Wakayama *et al.*, *Sci.*

*Adv.* 2021; 7 : eabg5554 11

June 2021

КОСМИЧЕСКОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ НЕ ПОВЛИЯЛО НА ДНК СПЕРМАТОЗОИДОВ ИЛИ ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПОСЛЕ КОНСЕРВАЦИИ НА МКС, И ГЕНЕТИЧЕСКИ НОРМАЛЬНЫЕ ПОТОМКИ БЫЛИ ПОЛУЧЕНЫ БЕЗ СНИЖЕНИЯ ПРОЦЕНТА УСПЕХА ПО СРАВНЕНИЮ С НАЗЕМНЫМ КОНТРОЛЕМ. РЕЗУЛЬТАТЫ НАЗЕМНЫХ РЕНТГЕНОВСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПОКАЗАЛИ, ЧТО СПЕРМАТОЗОИДЫ МОГУТ ХРАНИТЬСЯ БОЛЕЕ БОЛЕЕ 200 ЛЕТ В КОСМОСЕ.

Fig. 1. Schematic diagram of the preparation of FD sperm and the type of experiments conducted.

## Step1. Freezing of mouse sperm suspension

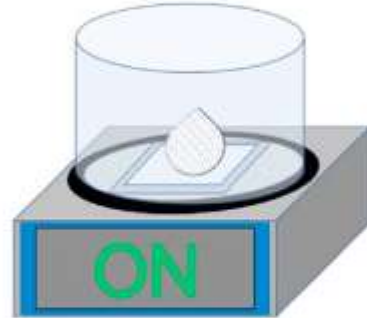
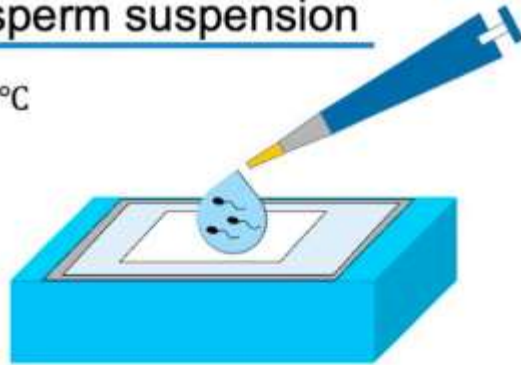
- Pre-incubation: 30 min-1 hour, 37°C
- Freezing: 10 min above LN<sub>2</sub>

## Step2. Vacuum-drying

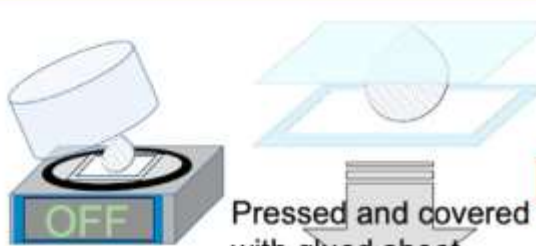


Vacuum-dryer

- Chamber: -50°C, 0.100 mbar
- Drying: 6 hours

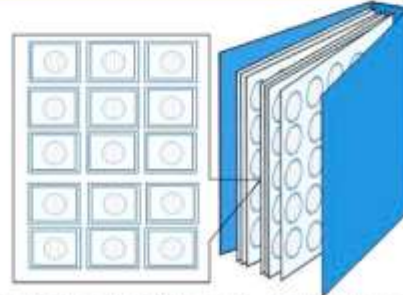


## Step3. Preservation of FD sperm as a "Sperm-book"



Sperm-sheet

Pressed and covered  
with glued sheet



A lot of sheets are contained  
in a card folder

## Протокол сохранения лиофилизированных сперматозоидов мышей на тонких пластиковых листах

Ito & Wakayama, STAR Protocols 2, 100933  
December 17, 2021

<https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100933>

Консервирование лиофилизированных (FD) сперматозоидов млекопитающих обычно выполняется с помощью стеклянных ампул; однако они громоздкие и хрупкие. В данном исследовании представлен протокол для подготовки и сохранения FD-спермы мыши с использованием тонких пластиковых листов. Такой подход позволяет хранить в папке тысячи штаммов мышей. Также возможно отправить FD-сперму по почте с помощью «открытки» без какого-либо дополнительного оборудования.

**В ДОСТУПНОЙ СОВРЕМЕННОЙ ЛИТЕРАТУРЕ ОТСУТСТВУЮТ ДАННЫЕ ОБ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПО ЛИОФИЛИЗАЦИИ СЕМЕНИ ПТИЦ.**

**ВОЗМОЖНО, ЭТО СВЯЗАНО С ТЕМ, ЧТО ПРОЦЕДУРА ICSI У ПТИЦ ИЗ-ЗА ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И РАЗМЕРА ЯЙЦЕКЛЕТКИ В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИ НЕВОЗМОЖНА. ЕДИНСТВЕННАЯ ОПУБЛИКОВАННАЯ ПОПЫТКА ЛИОФИЛИЗИРОВАТЬ СЕМЯ ПТИЦ БЫЛА ПРЕДПРИНЯТА В 1949 ГОДУ POLGE ET AL. ИССЛЕДОВАТЕЛЯМ УДАЛОСЬ СОХРАНИТЬ 50% ПОДВИЖНОСТИ У РЕГИДРАТИРОВАННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ. НО ПРОЕКТ НЕ ПОЛУЧИЛ ДАЛЬНЕЙШЕГО ПРОДОЛЖЕНИЯ.**

**НА СЕГОДНЯШНИЙ ДЕНЬ, ОПУБЛИКОВАН ЕДИНСТВЕННЫЙ УСПЕШНЫЙ ПРОТОКОЛ СУБЛИМАЦИОННОЙ СУШКИ И РЕГИДРАЦИИ СЕМЕНИ ПТИЦ (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*), РАЗРАБОТАННЫЙ ЛАБОРАТОРИИ ВНИИГРЖ. НАМ УДАЛОСЬ СОХРАНИТЬ НЕ ТОЛЬКО ПОДВИЖНОСТЬ, НО И ФЕРТИЛЬНОСТЬ СУБЛИМИРОВАННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПЕТУХОВ**



# СОЗДАНИЕ И ВЕРИФИКАЦИЯ ПРОТОКОЛА ДОСТИЖЕНИЯ ОБРАТИМОГО БИОСТАЗА СПЕРМАТОЗОИДОВ *GALLUS GALLUS DOMESTICUS*



ВО ВНИИГРЖ ВПЕРВЫЕ В МИРЕ РАЗРАБОТАН И ВЕРИФИЦИРОВАН ПРОТОКОЛ ДОСТИЖЕНИЯ ОБРАТИМОГО АНГИДРОБИОЗА - ПЕРВИЧНОЙ ЛИОФИЛЬНОЙ СУШКИ СЕМЕНИ ПЕТУХОВ (С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИОФИЛЬНОЙ СУШИЛКИ TFD-8501, ILSHINVIOWASE CO., LTD, КОРЕЯ), С ДАЛЬНЕЙШЕЙ РЕГИДРАТАЦИЕЙ СРЕДОЙ НА ОСНОВЕ НЕСУЛЬФИРОВАННОГО ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНА - ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЙ СОХРАННОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕЛОСТНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ, В ТОМ ЧИСЛЕ КИНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА, И ИХ ФЕРТИЛЬНОСТЬ.

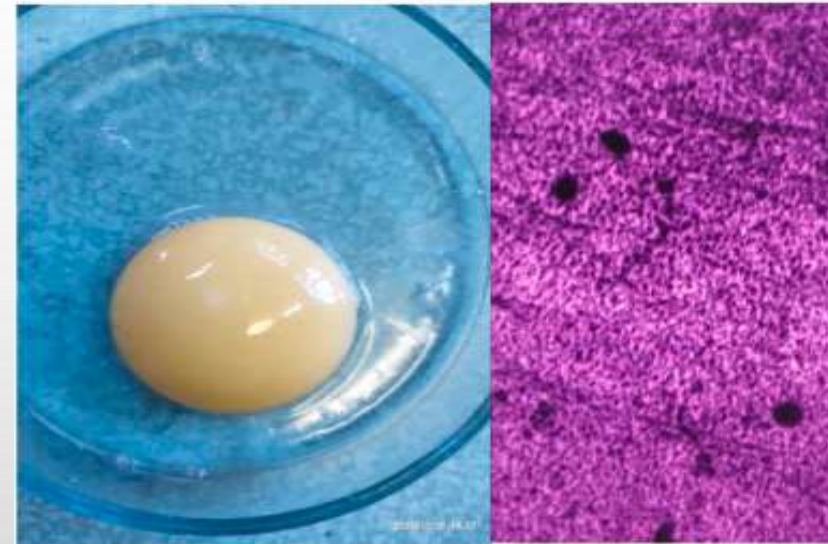
ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ ВИРГИННЫХ КУР РЕГИДРАТИРОВАННЫМ СЕМЕНЕМ ПОЛУЧЕНЫ ДАННЫЕ О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ С ВИТЕЛЛИНОВОЙ МЕМБРАНОЙ ЖЕЛТКА ЯИЦ - ДО 37 ШТ/СМ<sup>2</sup>, ПОЛУЧЕНО ОПЛОДОТВОРЕННОЕ ЯЙЦО (ИЗ 9 СНЕСЕННЫХ ЯИЦ, СОБРАННЫХ ЗА 1 ДЕНЬ).

**А** - ОПЛОДОТВОРЕННОЕ ЯЙЦО, ПОЛУЧЕННОЕ ПРИ ОСЕМЕНЕНИИ

ВИРГИННЫХ КУР РЕГИДРАТИРОВАННЫМ СЕМЕНЕМ

**В** – ТОЧКИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РЕГИДРАТИРОВАННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ

С ВИТЕЛЛИНОВОЙ МЕМБРАНОЙ ЖЕЛТКА ЯЙЦА



ЦЕЛЬЮ РАЗРАБОТКИ ЯВЛЯЕТСЯ ВОЗМОЖНОСТЬ ДОЛГОВРЕМЕННОГО ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ ЛИОФИЛИРОВАННОГО СЕМЕНИ ПЕТУХОВ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 1-5° С, БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЖИДКОГО АЗОТА.

ТРЕБУЮТСЯ ДАЛЬНЕЙШИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ПОНИМАНИЯ ПРОИСХОДЯЩИХ В КЛЕТКЕ ПРОЦЕССОВ НА ВСЕХ ЭТАПАХ ЛИОФИЛИЗАЦИИ, ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ФАКТОРОВ НА КАЖДОМ ЭТАПЕ, ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ЛИОФИЛЬНОЙ СУШКИ И РАЗРАБОТКИ КРИОПРОТЕКТОРНЫХ И РЕГИДРАЦИОННЫХ СРЕД С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ЧИСЛА ФУНКЦИОНАЛЬНО ПОЛНОЦЕННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ В ОБРАЗЦАХ СЕМЕНИ.



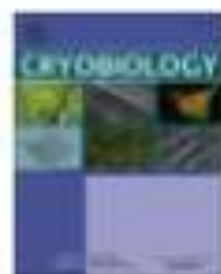




Contents lists available at ScienceDirect

## Cryobiology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/cryo](http://www.elsevier.com/locate/cryo)



### A successful protocol for achieving anhydrobiosis of *Gallus Gallus Domesticus* spermatozoa while maintaining their fertility *IN VIVO*

Olga Stanishevskaya<sup>a,c</sup>, Yulia Silyukova<sup>a,b,\*</sup>, Nikolay Pleshchikov<sup>a,c</sup>, Anton Kurochkin<sup>a,c</sup>,  
Elena Fedorova<sup>a,c</sup>, Anton A. Radaev<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.N. Ersmat Federal Science Center for Animal Husbandry, Saint-Petersburg, Russia

<sup>b</sup> Chromat Care Facility, St. Petersburg University, Research Park 2/2, Oranienbaum Highway, St. Petersburg, 198204, Russia

<sup>c</sup> Department of Genetics, Breeding and Gene Pool Preservation poultry, Mestekovskoe St, 22A, Pushkin, Saint-Petersburg, 196601, Russia

**БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ**

ИССЛЕДОВАНИЯ ВЫПОЛНЕНЫ ПО ТЕМЕ ГОСЗАДАНИЯ  
№121052600357-8 И ГРАНТА РНФ № 19-16-00009

