

Life of Genomes
2022

Научный центр
"Регуляторная геномика"
ИФМиБ КФУ

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

Успешный протокол для достижения ангиробиоза
сперматозоидов *Gallus Gallus Domesticus* при сохранении
их фертильности *IN VIVO*

Speaker:

Silyukova Yulia, svadim33@mail.ru

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding—Branch of the
L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry (St. Petersburg, Russia)



The objective of our study was to develop a protocol for freeze-drying rooster semen to obtain spermatozoa that retain their functional usefulness and ability to fertilize *in vivo* after rehydration.

Целью нашего исследования была разработка протокола сублимационной сушки спермы петуха для получения сперматозоидов, сохраняющих свою функциональную полезность и способность к оплодотворению *in vivo* после регидратации.

Journal of Reproduction and Development

Online ISSN : 1348-4400
Print ISSN : 0916-8818
ISSN-L : 0916-8818

[Journal home](#)[Advance online publication](#)[All issues](#)[Featured articles](#)[About the journal](#)

[J-STAGE home](#) / [Journal of Reproduction and De ...](#) / Volume 65 (2019) Issue 4 / Article overview

Original Article

Effect of trehalose on the preservation of freeze-dried mice spermatozoa at room temperature

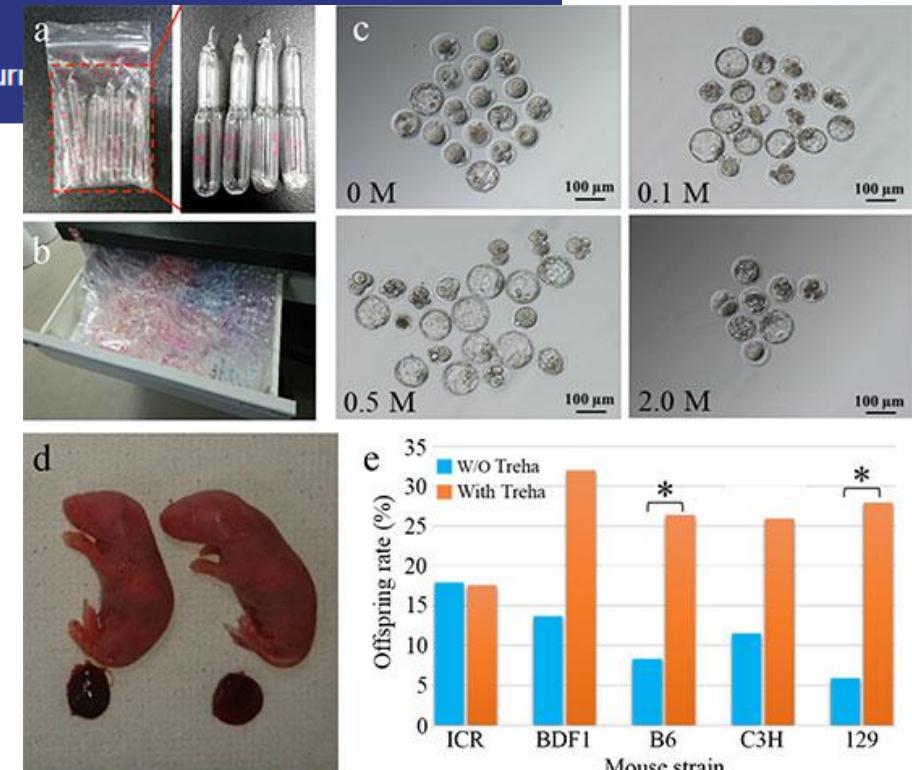
Daiyu ITO, Sayaka WAKAYAMA, Yuko KAMADA, Ikue SHIBASAKI, Satoshi KAMIMURA, Masatoshi OOGA, Teruhiko WAKAYAMA

Author information

Keywords: [Freeze-dry](#), [Intracytoplasmic spermatozoa injection \(ICSI\)](#), [Spermatozoa](#), [Trehalose](#)

JOURNAL

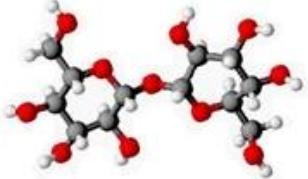
FREE ACCESS



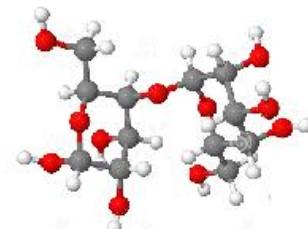
Использование сублимированных сперматозоидов в протоколе интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ICSI), т.е. использование и сохранение ядра клетки



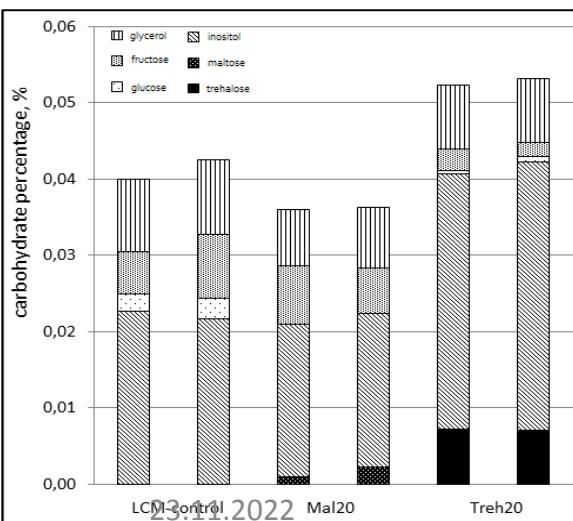
- Fructose -



- Trehalose -



- Maltose -



Results

Results of chromatographic analysis of carbohydrate content in cytosol of spermatozoa

Number of molecules in the media and the number of molecules introduced into the native semen after equilibration (dilution 1:1), pcs/ml (theoretical calculation).

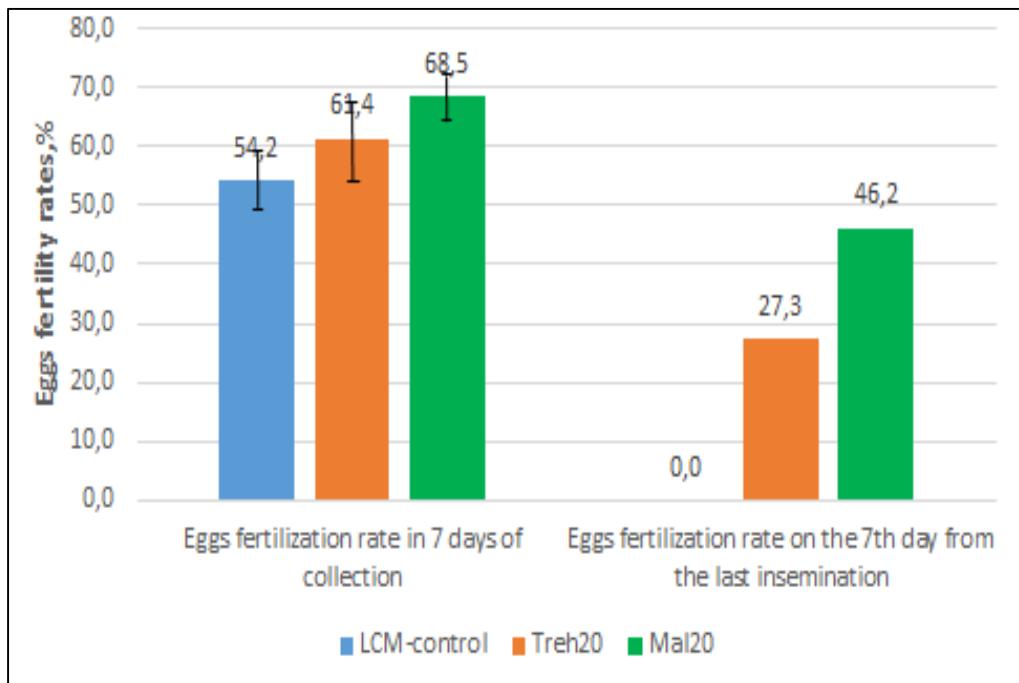
Saccharide	LCM control*		Mal20*		Treh20*	
	The number of molecules					
	In the media (per 1 ml)	Introduced into the native semen (per 1 ml)	In the media (per 1 ml)	Introduced into the native semen (per 1 ml)	In the media (per 1 ml)	Introduced into the native semen (per 1 ml)
Fructose	$0,265 \cdot 10^{20}$	$1,463 \cdot 10^{14}$	$0,216 \cdot 10^{20}$	$0,517 \cdot 10^{14}$	$0,216 \cdot 10^{20}$	$0,675 \cdot 10^{14}$
Maltose	-	-	$0,057 \cdot 10^{20}$	$0,233 \cdot 10^{14}$	-	-
Trehalose	-	-	-	-	$0,057 \cdot 10^{20}$	$0,875 \cdot 10^{14}$

Carbohydrate composition of spermatozoa cytosol in native rooster semen after equilibration with cryoprotective diluents

Results of chromatographic analysis of carbohydrate content in cytosol of spermatozoa

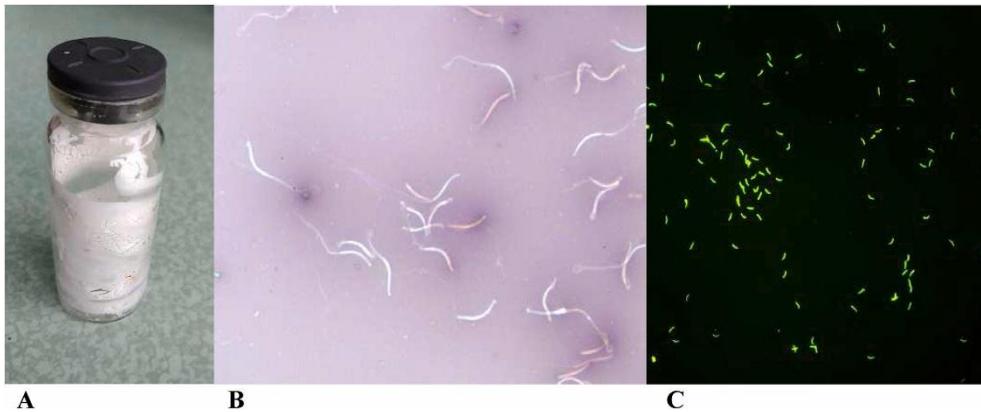
Theoretical number of molecules in the cytosol of each spermatozoa after equilibration for 40 minutes, pcs.

Saccharide	The number of molecules in the cytosol of the spermatozoa after equilibration, pcs		
	LCM control*	Mal20*	Treh20*
Fructose	$6.65 \cdot 10^4$	$2.35 \cdot 10^4$	$3.07 \cdot 10^4$
Maltose	-	$1.06 \cdot 10^4$	-
Trehalose	-	-	$3.98 \cdot 10^4$



Evaluation of the development of embryos on the seventh day of egg incubation showed that the embryos corresponded to the standards of development according to Hamburger and Hamilton (1951) stages 29-30 by 100% in the Treh20 and Mal20 groups (Figure 3) and by 98.4% in the LCM control group.

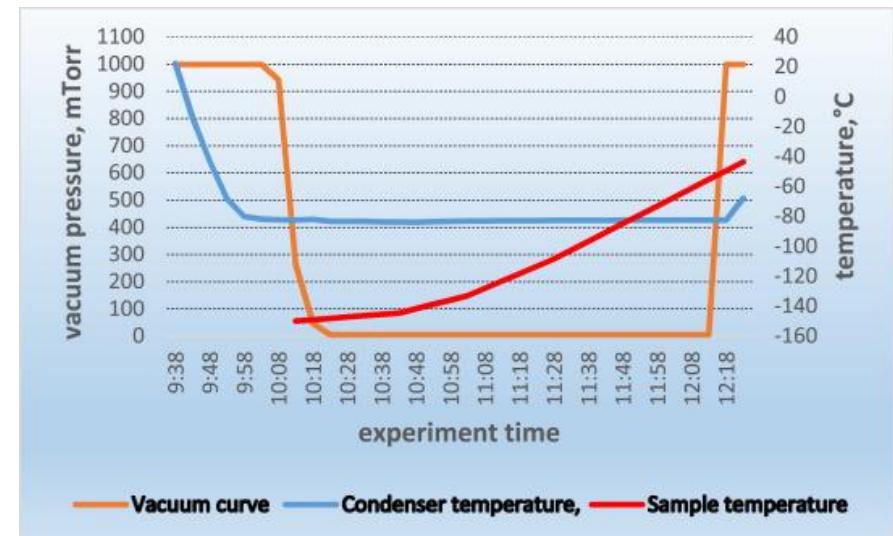
It should be concluded that the use of saccharides as components of cryoprotective media for low-temperature freezing of bird semen has great prospects from the point of view of maintaining the functional usefulness and fertility of frozen/thawed spermatozoa



- Этапы цикла лиофилизации репродуктивных клеток:
1. Замораживание
 2. Первичная сушка
 3. Регидратация сушка

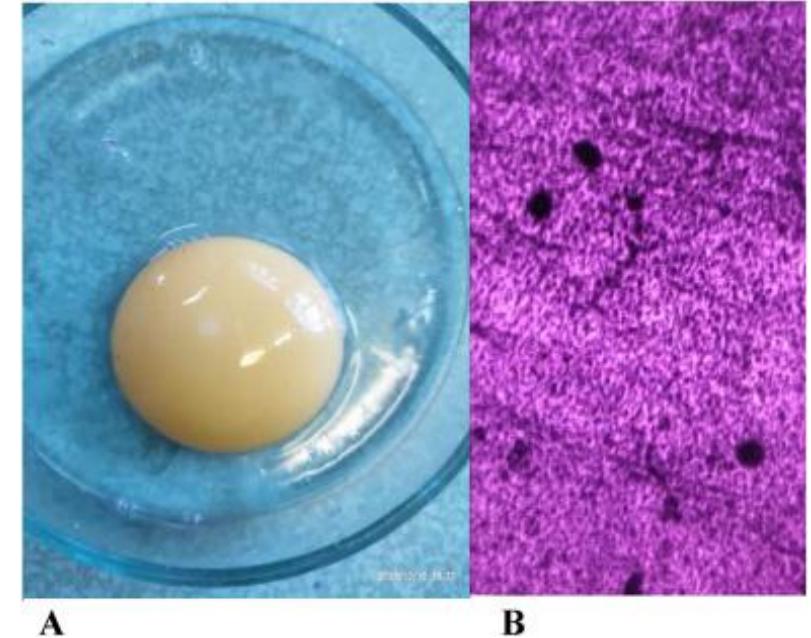
РЕЗУЛЬТАТЫ НАШЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ:

1. Замораживание: семя замораживали в тонком слое с криозащитными разбавителями, после эквилибрации семя центрифугировали и удаляли надосадочную жидкость (до 75% от первоначального объема семени).
2. Первичная сушка в условиях отрицательной температуры за счет аккумуляторов холода расположенных в сушильной камере лиофильной установки.
3. Регидратация проводилась микродиспенсерно с использованием восстановительной среды, содержащей гиалуроновую кислоту.



РЕЗУЛЬТАТЫ:

1. Сохранность подвижности сперматозоидов в среднем 1% при оценке пяти полей зрения по 250–300 клеток в каждом поле.
2. Целостность мембран регидратированных сперматозоидов составила 61,0 %
3. Количество сперматозоидов с интактным хроматином — 75,0 %
4. По результатам искусственного осеменения виргинных кур регидратированной спермой из восьми яиц, снесенных в 1 сутки сбора, было получено одно оплодотворенное яйцо.
5. Оценка функционального состояния перивителлиновой оболочки яичного желтка показала, что все образцы без исключения ($n = 8$) имели точки взаимодействия сперматозоидов с перивителлиновой оболочкой яичного желтка. Количество точек взаимодействия колебалось от 7 до 37 шт/см²



A

B



Cryobiology
Volume 104, February 2022, Pages 102-106



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

Olga Stanishevskaya ^{a, c}, Yulia Silyukova ^{a, c} Nikolay Pleshanov ^{a, c}, Anton Kurochkin ^{a, c},
Elena Fedorova ^{a, c}, Anton A. Radaev ^b

Publications on the problems of preserving the biomaterial of the collection by *in vitro* methods



Animal Reproduction Science
Volume 220, September 2020, 106409



P49

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

ГЕНЕТИКА ЖИВОТНЫХ
Обзор / Review

Вавиловский журнал генетики и селекции. 2020;24(2):176-184
DOI 10.18699/VJ20.611

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

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

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry,
Pushkin, St. Petersburg, Russia
✉ e-mail: olgastan@list.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 Pleshakov; Anton Kurochkin; Elena Fedorova; Zoya Fedorova; Oksana Perinek; Anna Prituzhalova; Inessa Meftakh

Animals 2021, Volume 11, Issue 1, 189



Силюкова Ю.Л., Станишевская О.И., Плешанов 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



molecules



Article

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

Olga Stanishevskaya, Yulia Silyukova *^a, Nikolai Pleshakov and Anton Kurochkin

Cryobiology 104 (2022) 102-106

Contents lists available at ScienceDirect

Cryobiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cryo



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

Olga Stanishevskaya ^{a,*}, Yulia Silyukova ^{a,c}, Nikolay Pleshakov ^{b,c}, Anton Kurochkin ^{a,c},
Elena Fedorova ^{a,c}, Anton A. Radakov ^b

* Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, Saint-Petersburg, Russia

^a Chiracs Core Facility, St. Petersburg University Research Park 2/2, Oranienbaum Highway, St. Petersburg, 199024, Russia

^b Department of Genetics, Breeding and Gene Pool Preservation Poultry. Morskoye Sh., 224, Pushkin, Saint-Petersburg, 198801, Russia



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 ^a, Olga Stanishevskaya, Nikolay Pleshakov, Anton Kurochkin



current issues in
molecular biology



an Open Access Journal by MDPI
Influence of Technological Stages of Preparation of Rooster Semen for Short-Term and Long-Term Storage on Its Quality Characteristics

Yulia Silyukova; Elena Fedorova; Olga Stanishevskaya

Curr. Issues Mol. Biol. 2022, Volume 44, Issue 11, 5531-5542

Исследования выполнены по теме Госзадания №121052600357-8

THANK YOU FOR ATTENTION!

