

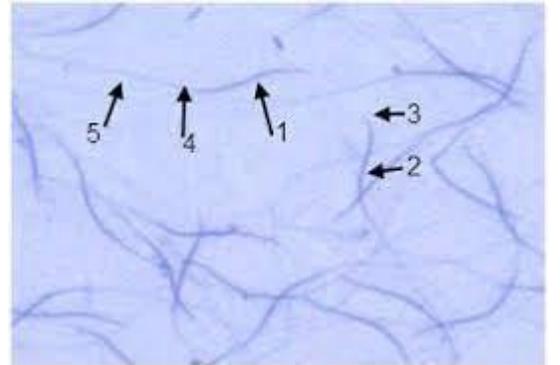
КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ГАМЕТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПТИЦ – ДОСТИЖЕНИЯ, АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ ИХ РЕШЕНИЯ



Станишевская Ольга Игоревна

д.б.н., зав. лабораторией генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов с.-х. птиц ВНИИГРЖ

olgastan@list.ru



МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ «Современные достижения и проблемы биологии и биотехнологии репродукции животных», посвященный 120-летию академика В.К. Милованова и доктора наук И.И. Соколовской
15-19 апреля 2024 г. Дубровицы

Методы сохранения генофонда малочисленных и исчезающих пород кур, специализированных экспериментальных линий для фундаментальных исследований в области биологии, медицины и сельского хозяйства:

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

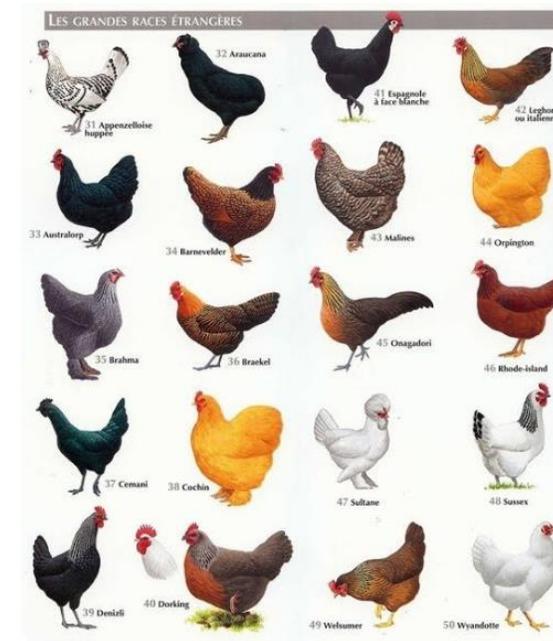


**2. Сохранение репродуктивного материала в состоянии криобиоза
(*in vitro*).**



Доля национальных пород с.-х. животных, сохраняемых в генетических банках, %

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



<https://www.pinterest.jp/pin/83879611802468915/>

1641 порода кур
19% под угрозой уничтожения или вымерли
64% статус неизвестен

<https://alitoools.io/ru/showcase/modelirovanie-milih-domashnih-zhivotnih-korova-telenok-angus-bik-buyvol-modely-figurki-razvivayushtie-pvh-milaya-igrushka-detskiy-podarok-4000867545298>

Источник: FAO, Country reports, 2014

Криобанки и их вклад в сохранение генетических ресурсов

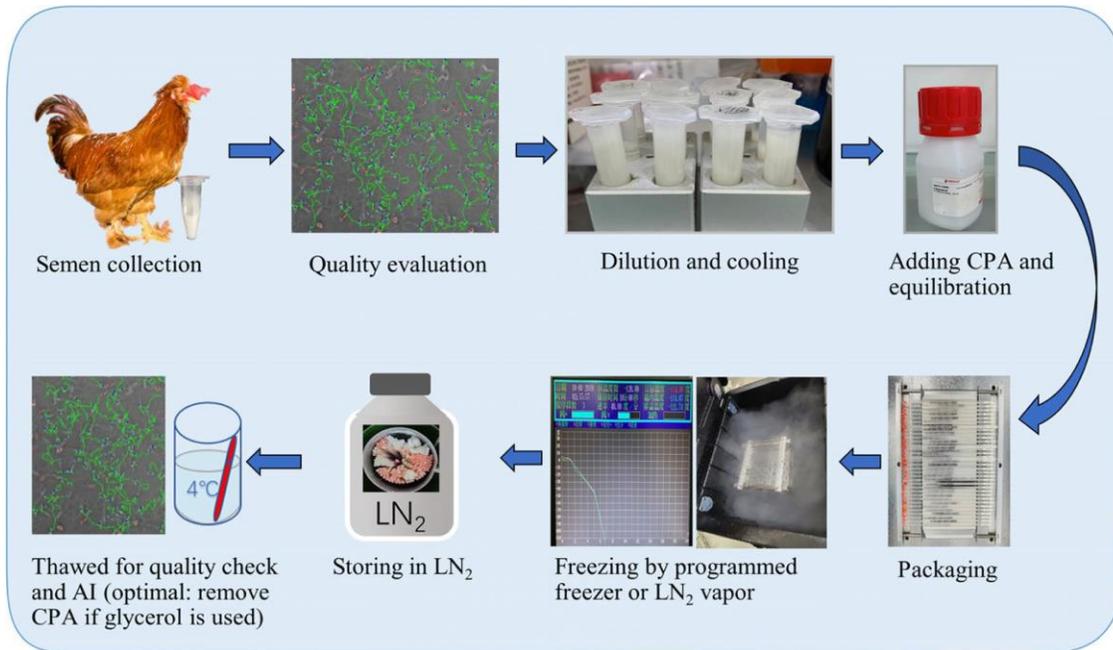
- **предотвращение исчезновения пород** из-за экстремального генетического состояния, такого как малая численность породы/популяции, высокая частота встречаемости генетических дефектов в результате интенсивной селекции и генетического дрейфа
- **источник генетически разнообразной и специализированной 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 криобанках 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*.**

Методы сохранения зародышевой плазмы птиц (половых клеток и их предшественников) *in vitro*

- **Криоконсервация семени** самцов сельскохозяйственных птиц
- **Криоконсервация женских гамет** за счет витрификации тканей донорских яичников самок недельного возраста с последующей трансплантацией реципиентам или витрификации эмбриональных гонад с последующим выделением клеток-предшественников гамет и их ретрансплантацией эмбрионам-реципиентам
- **Криоконсервация плюрипотентных зародышевых клеток**
 - **бластодермальных клеток (BCs)** эмбрионов на стадии Х, которые включают некоторое количество зародышевых клеток
 - **первичных зародышевых клеток (PGCs)** из зародышевой серповидной области или эмбриональной кровеносной системы
- **Криоконсервация соматических клеток** или тканей эмбрионов с последующим перепрограммированием для получения индуцированных первичных зародышевых клеток (iPGCs)

МЕТОД КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СЕМЕНИ ПТИЦ – ПЛЮСЫ

- Практически единственный на сегодняшний день «работающий» метод сохранения генофонда *in vitro*.
- Менее затратный способ сохранения генетического разнообразия по сравнению с методом сохранения *in vivo*.
- Высокая степень разработанности метода - созданы 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».



Sun et al. *Journal of Animal Science and Biotechnology* (2022) 13:115
<https://doi.org/10.1186/s40104-022-00768-2>

Проблемы криоконсервации семени с.-х. птиц

Криоконсервированное семя сельскохозяйственных птиц используется в коммерческих селекционных программах в ограниченной степени, поскольку высокий эффект селекции на поколение отбора делает использование самцов от предыдущих поколений нецелесообразным. Это не способствует развитию метода. Показатели фертильности сперматозоидов, в зависимости от технологии замораживания-оттаивания и состава криозащитных разбавителей, колеблются в широких пределах от 1,5 до 92,7%.

Особенности строения сперматозоидов птиц (ланцетовидная форма головки, низкое соотношение площади поверхности к объему, низкое содержание цитоплазмы, длинный тонкий хвост) и повышенная чувствительность клеточных мембран к окислительному стрессу за счет высокого содержания полиненасыщенных жирных кислот - значительно снижают их криоустойчивость по сравнению с клетками млекопитающих.

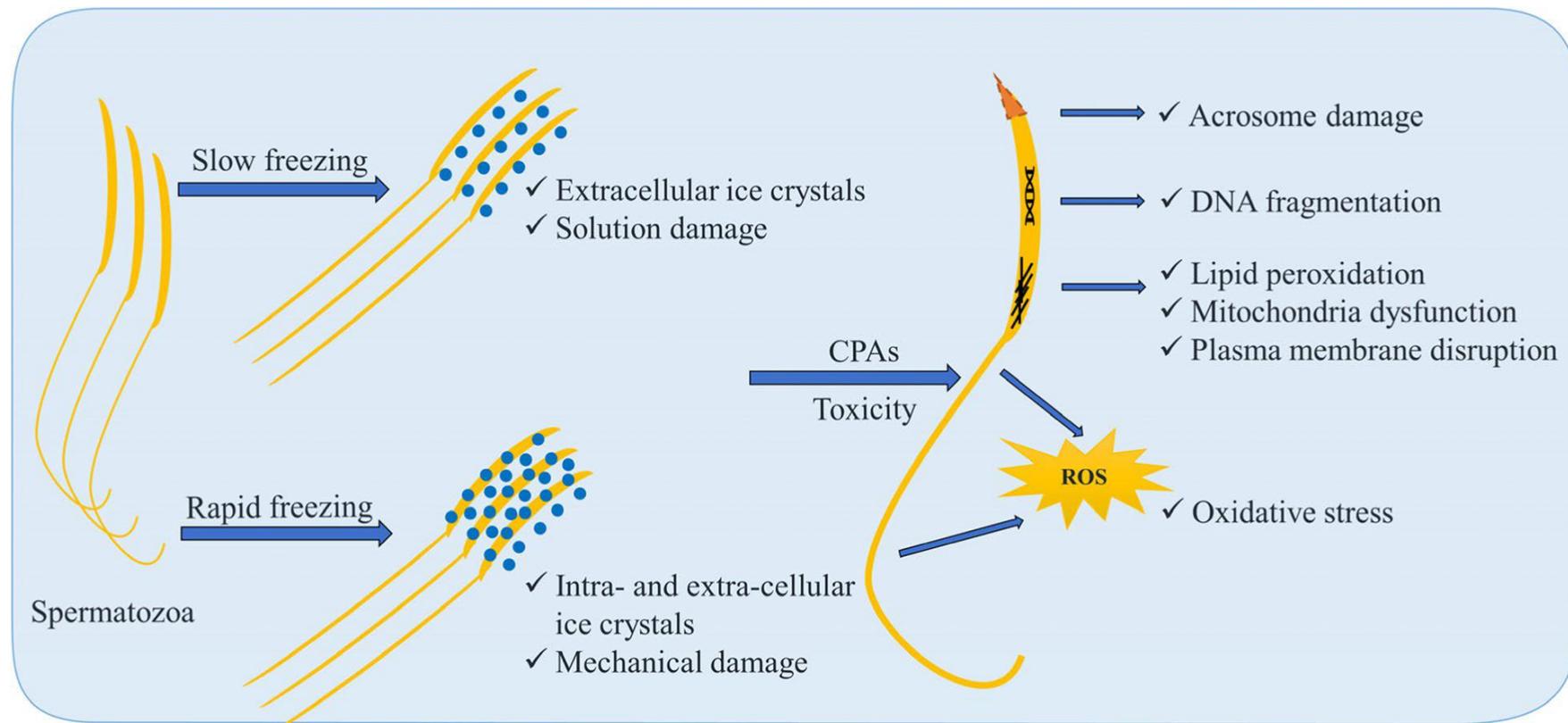
Значительная межпородная и индивидуальная изменчивость криоустойчивости сперматозоидов; коэффициент вариации (C_v) может достигать 23–25 %.

Генетическое разнообразие при использовании сохраняемого материала снижается на различных стадиях постсингамии по причине выбытия особей с пониженной криоустойчивостью репродуктивных клеток.

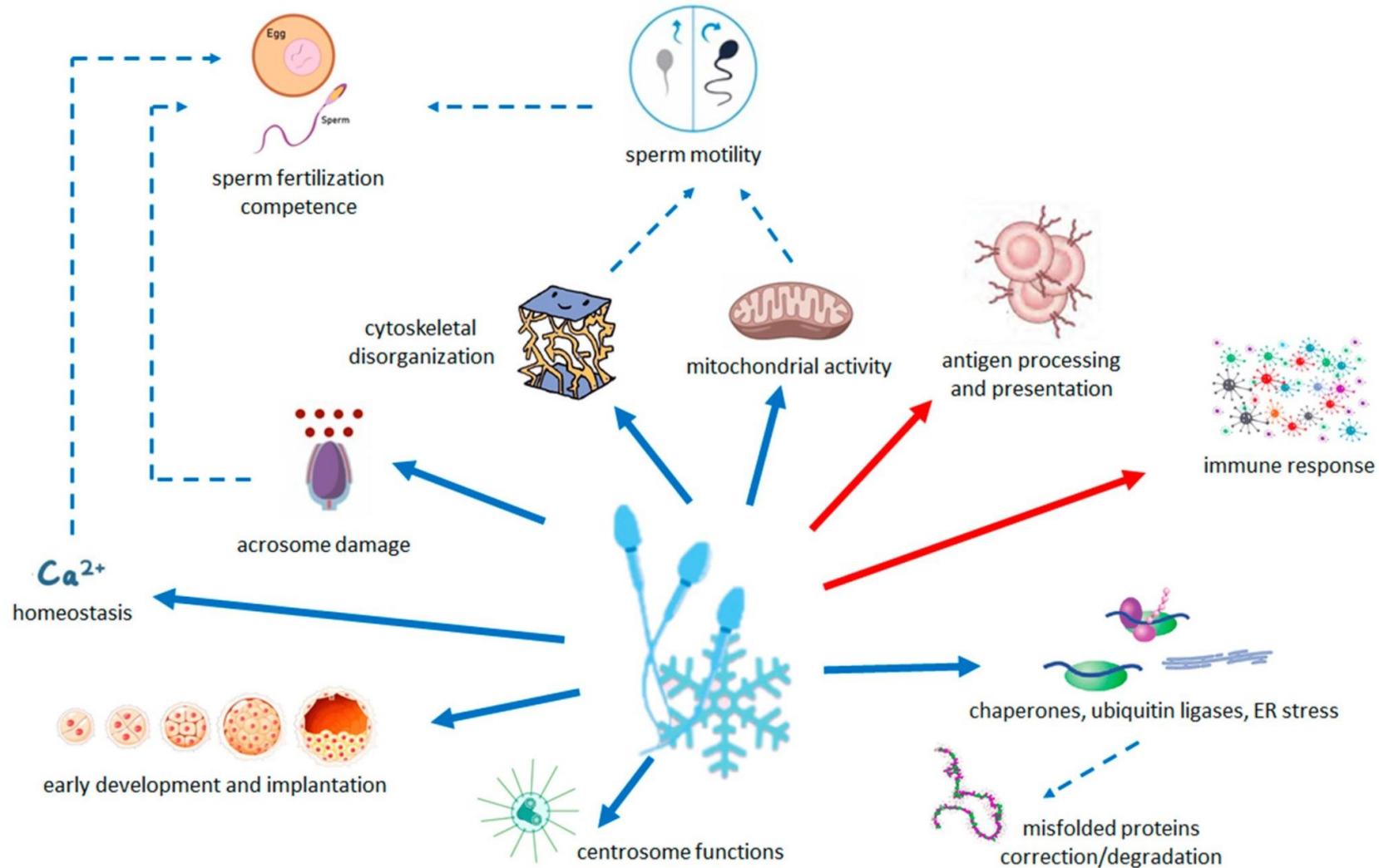


Задачи по криоконсервации гамет с.-х. птиц, требующие решения:

Сперматозоиды птиц, вследствие морфологических особенностей, имеют повышенную чувствительность к повреждающему воздействию низких температур. Криоконсервация запускает не только процессы повреждения мембран на механическом уровне, но и химико-физические процессы денатурации белков и липидов бислоев мембран, приводит к сублетальному замерзанию и запуску процессов криокаптации, образованию активных форм кислорода и необратимым морфологическим изменениям в клетках, что выражается в снижении подвижности и фертильности заморожено-оттаянных сперматозоидов.



Влияние процесса криоконсервации семени на морфофункциональные качества сперматозоидов



[A Pilot Analysis of Whole Transcriptome of Human Cryopreserved Sperm](#) by Sara Stigliani, Adriana Amaro, Francesco Reggiani, Elena Maccarini, Claudia Massarotti, Matteo Lambertini, Paola Anserini and Paola Scaruffi

Int. J. Mol. Sci. 2024, 25(7), 4131; <https://doi.org/10.3390/ijms25074131>

Задачи по криоконсервации гамет с.-х. птиц, требующие решения:

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. Необходимо глубокое изучение физиолого-биохимических процессов, протекающих в семени при его замораживании/оттаивании, а также роли различных веществ в сохранении функциональной полноценности сперматозоидов (липидных фракций мембран - гликолипидов, фосфолипидов, стероидов; холестерина и соотношения холестерина/фосфолипиды, степени ненасыщенности жирных кислот; аминокислотного профиля семенной плазмы; микроэлементов и др.).

Необходима разработка принципиально новых сред для замораживания семени с использованием комбинаций проникающих и непроникающих криопротекторов эндо- и экзоцеллюлярного действия природного происхождения, например, сахаридов, антифризных гликопротеинов (АФГП) и антифризных протеинов (АФП), обнаруженных в крови и тканях пойкилотермных организмов, живущих в морозных средах (насекомые, морские рыбы) и протоколов замораживания/оттаивания семени с учетом видовых, породных и индивидуальных биологических особенностей сперматозоидов, для обеспечения стабильно высоких показателей морфологической целостности и функциональной полноценности клеток.

Особое внимание необходимо уделить системе дополнительной антиоксидантной защиты сперматозоидов птиц. Показана эффективность кверцетина, L-карнитина, серина, мелатонина, гиалуроновой кислоты, инозитола, Mito-TEMPO, коэнзима Q10, витамина E, экстрактов некоторых трав и т.п.

Задачи по криоконсервации гамет, требующие решения:

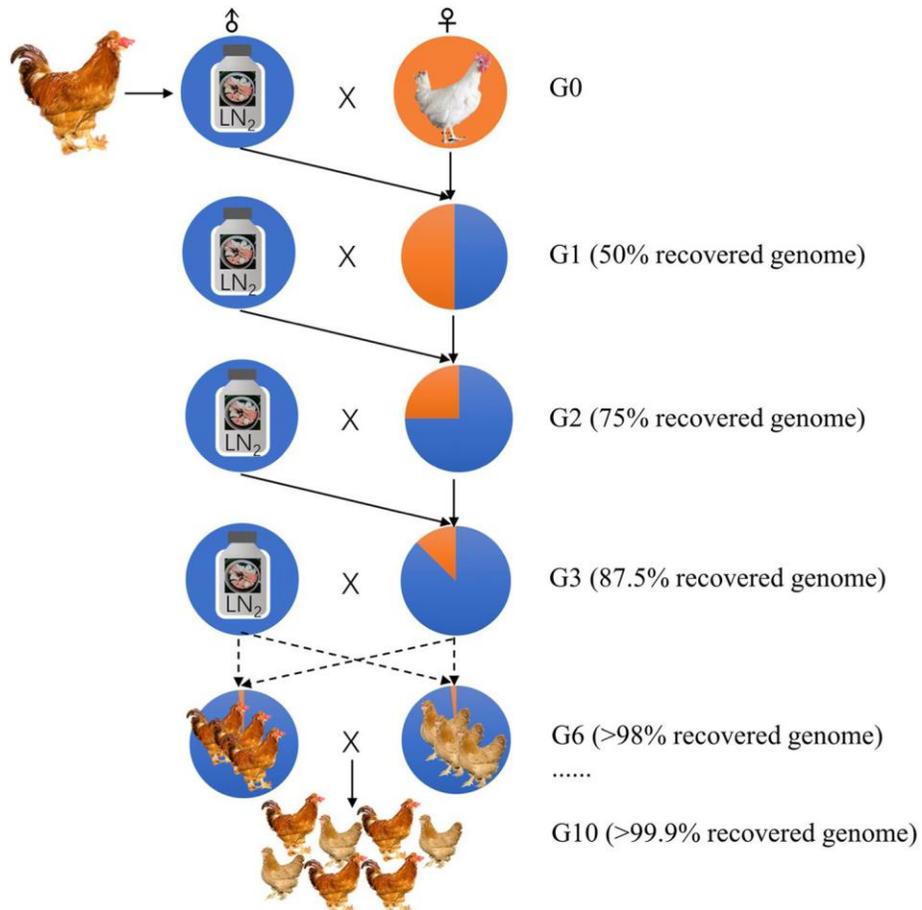


Схема реконструкции породы при использовании заморожено-оттаянного семени

Sun et al. *Journal of Animal Science and Biotechnology* (2022) 13:115
<https://doi.org/10.1186/s40104-022-00768-2>

Необходимый запас семени для воспроизводства породы 125 гол (FAO-2015)
17 соломин на 1 голову
2125 соломин
Доза осеменения 0,2 мл
Общий объем з/о семени ~ 1000 мл*
Средний объем эякулята петуха 0,5 мл
*<https://doi.org/10.1093/ps/86.3.555> по данным французского криобанка

Криобанк ВНИИГРЖ
125 голов
23 дозы осеменения в гранулах на 1 голову
2865 доз в гранулах
Доза осеменения 0,05 мл
Общий объем з/о семени ~143 мл

Существующие на сегодняшний день «работающие» методы сохранения только репродуктивных клеток самцов птиц (спермиев) позволяют восстанавливать исчезающие породы/популяции лишь за счет поглотительного скрещивания. Происходит частичная потеря материнского наследственного материала, поскольку гетерогаметным полом являются женский. Не сохраняется митохондриальный геном яйцеклетки.

Рекомендуется контроль за результатами скрещивания с использованием молекулярно-генетических методов.

Необходимо развитие методов криоконсервации женских гамет.

Криоконсервация женских гамет



Рис. 1. Крупные фолликулы в яичнике высокопродуктивных кур

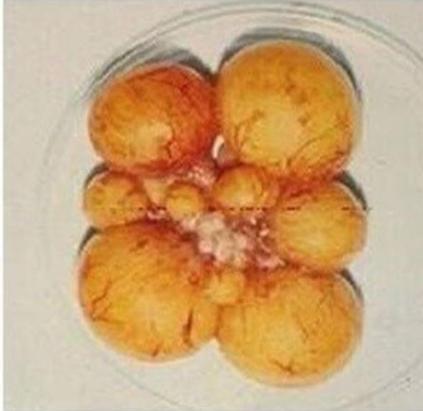
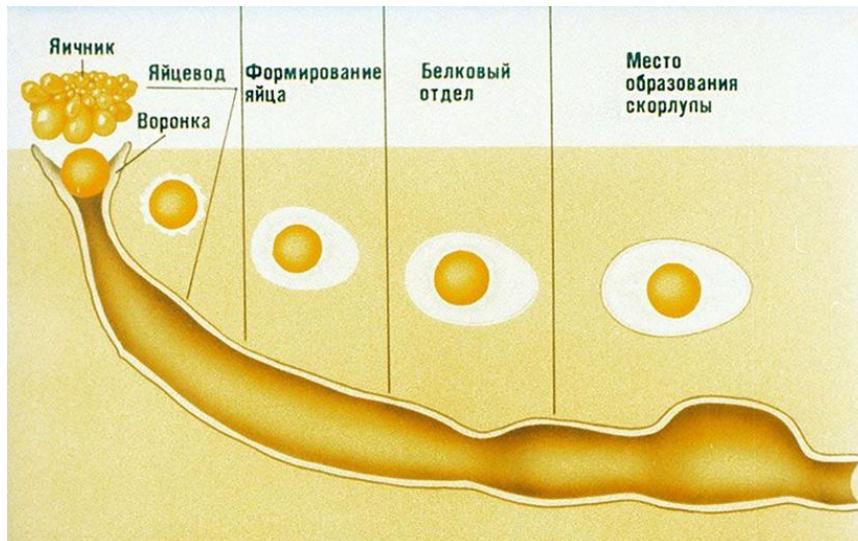
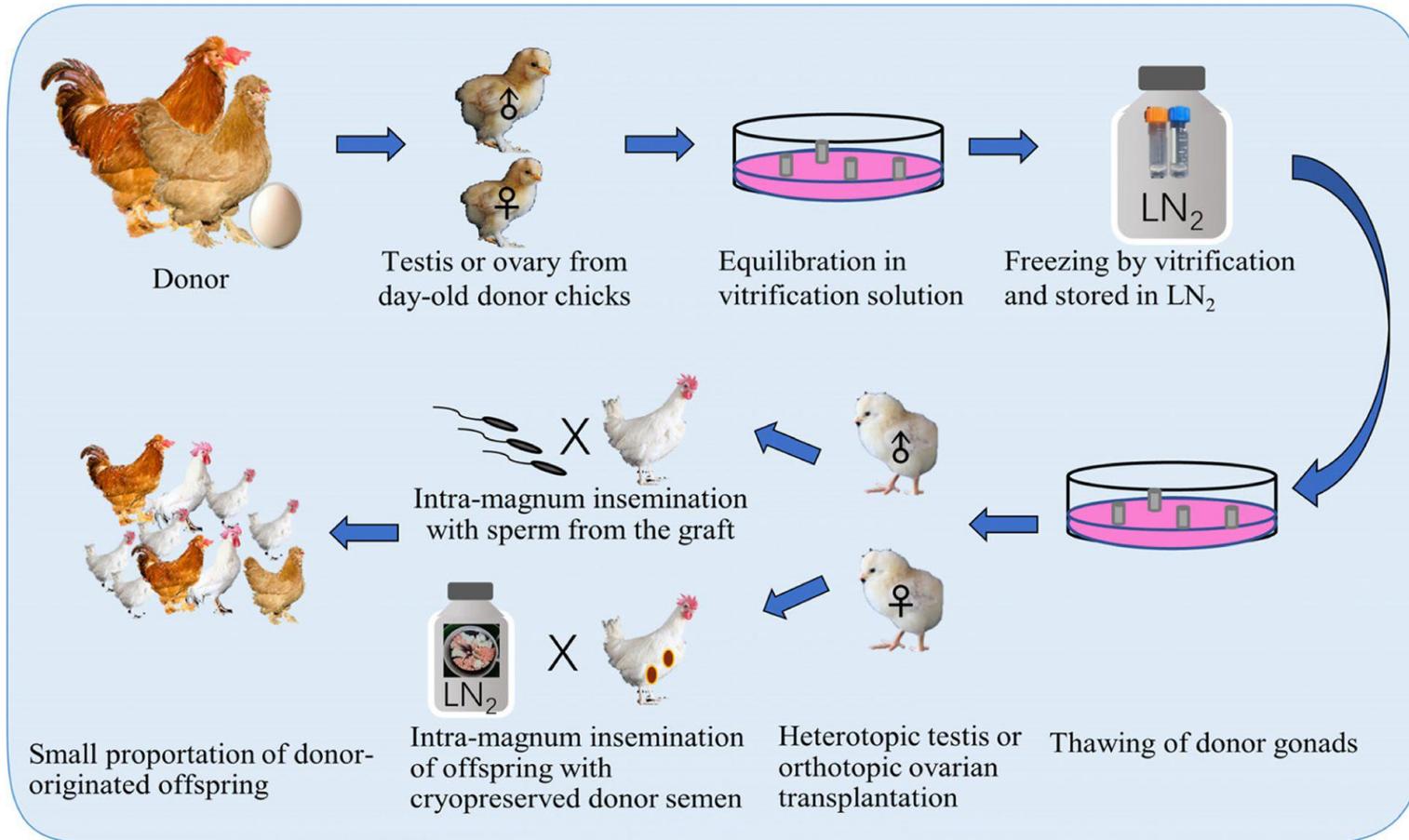


Рис. 2. Повышенное количество фолликул у мясо-яичных кур

Криоконсервация яйцеклетки и эмбриона макролецитальных видов животных (включая птиц) нецелесообразна из-за больших размеров и высокого содержания липидов в яйцеклетке, а также ввиду особенностей строения репродуктивного аппарата.

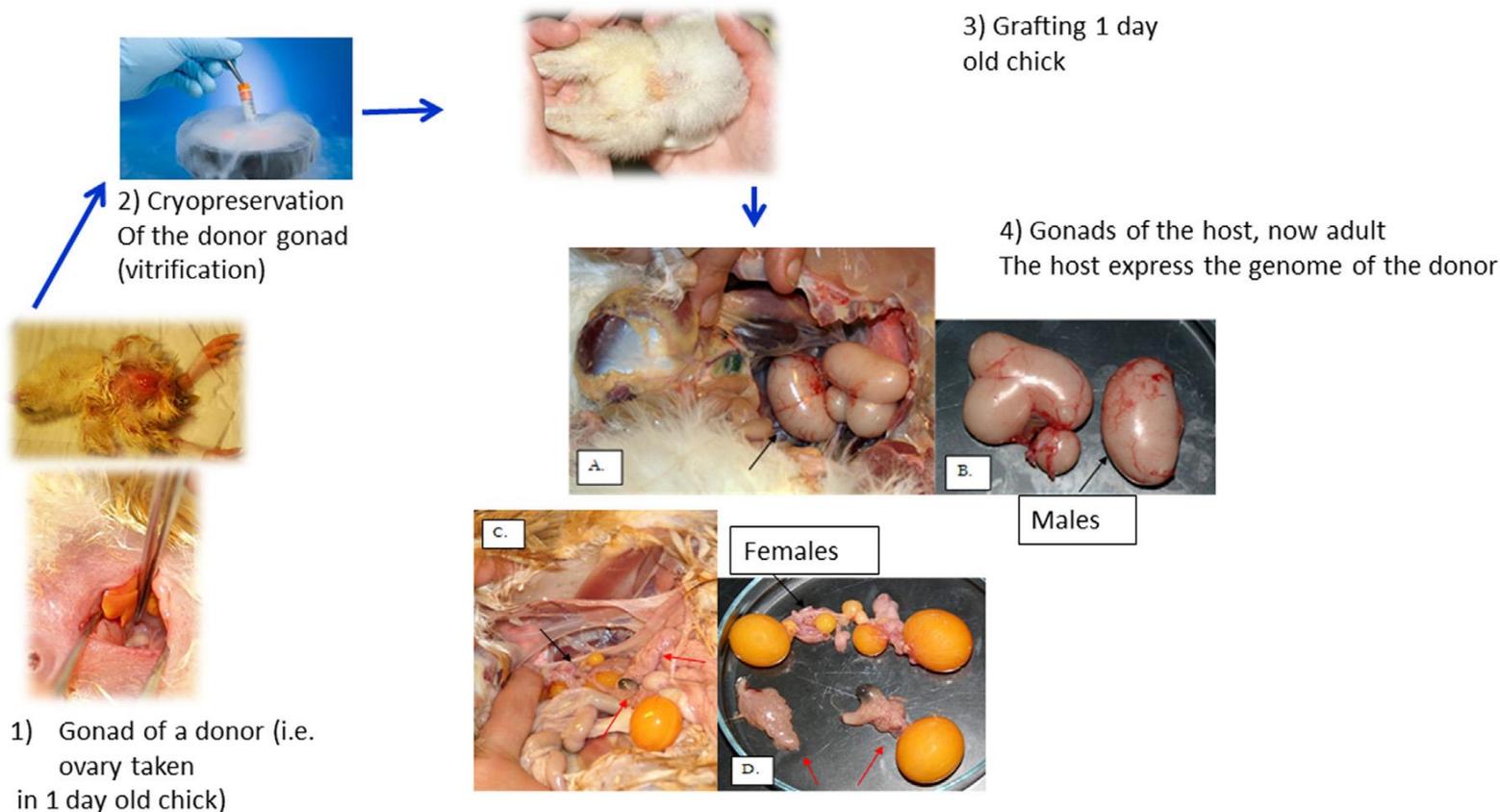


Метод криоконсервации и трансплантации (аллотрансплантация, ксенотрансплантация) постнатальной ткани гонад



Яичники цыплят содержат оогонии и примордиальные фолликулы. Криоконсервация гонад и функциональное восстановление фертильности путем трансплантации – перспективный вариант сохранения генофонда птиц.

Ограничение использования метода – значительная потребность в хирургических манипуляциях; в результате донорскими являются от 50 до 98% получаемых яйцеклеток.



Криоконсервация и трансплантация гонад:

(1) Удаление гонады суточного цыпленка-донора.

(2) Витрификация гонады.

(3) Криоконсервированную гонаду оттаивают и пересаживают реципиенту -

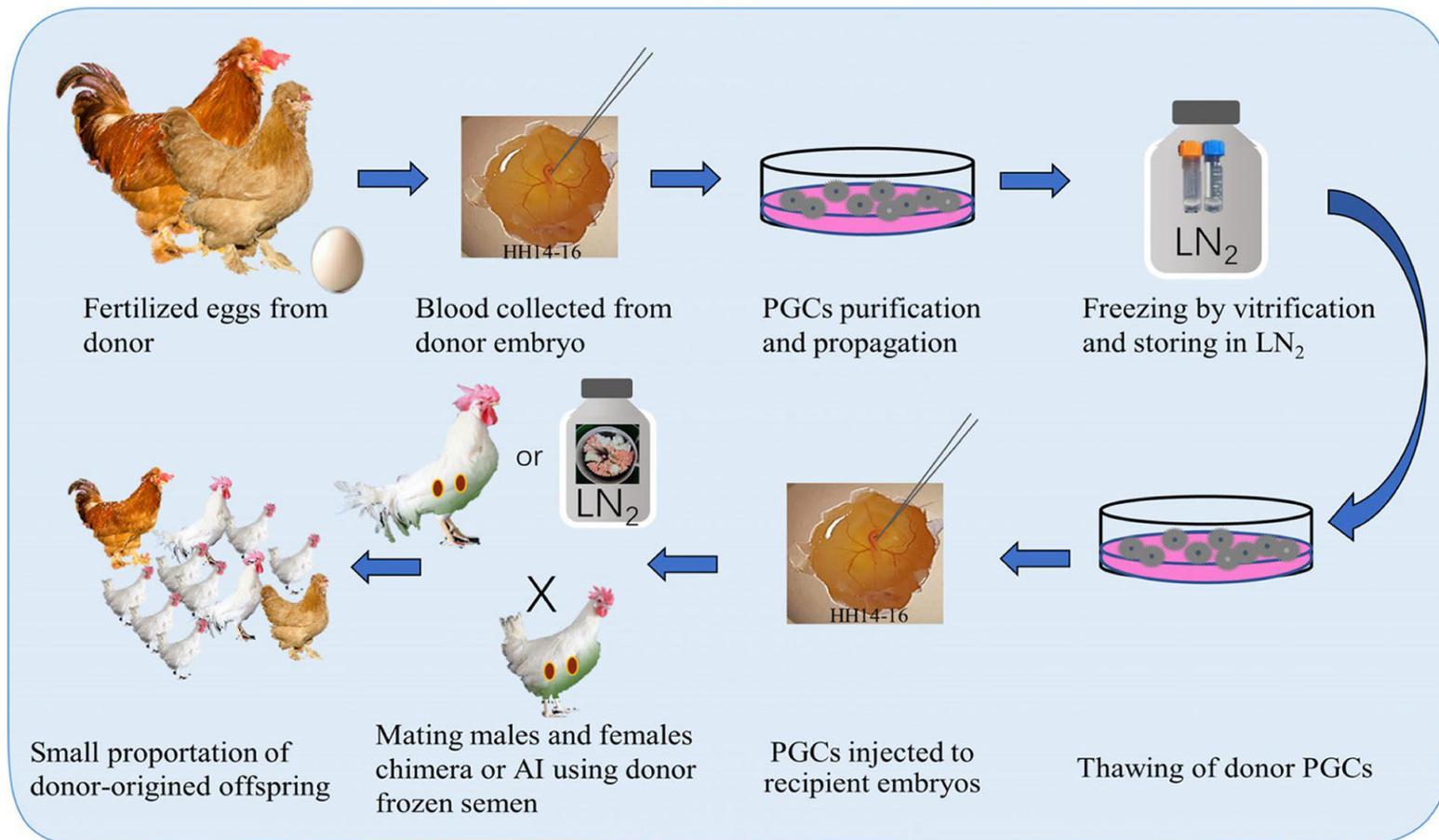
молодому цыпленку, у которого большая часть собственной ткани гонады удалена.

(4) Яичники (если гонада самки) взрослой особи-реципиента могут экспрессировать геном донора.

Photos from K. Liptoi, NCBGC, Hungary

J. Santiago-Moreno , E. Blesbois Animal board invited review: Germplasm technologies for use with poultry [Animal Volume 16, Issue 3](#), March 2022, 100475
<https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100475>

Криоконсервация первичных зародышевых клеток (PGCs) с последующей реимплантацией эмбрионам-реципиентам.



Миграция циркулирующих PGCs в кровотоке эмбриона достигает пика между стадиями 13-17 HH. Это оптимальное время для получения донорских PGCs и для введения эмбриону-реципиенту.

Пример использования PGCs для реконструкции породы кур Black Castellana

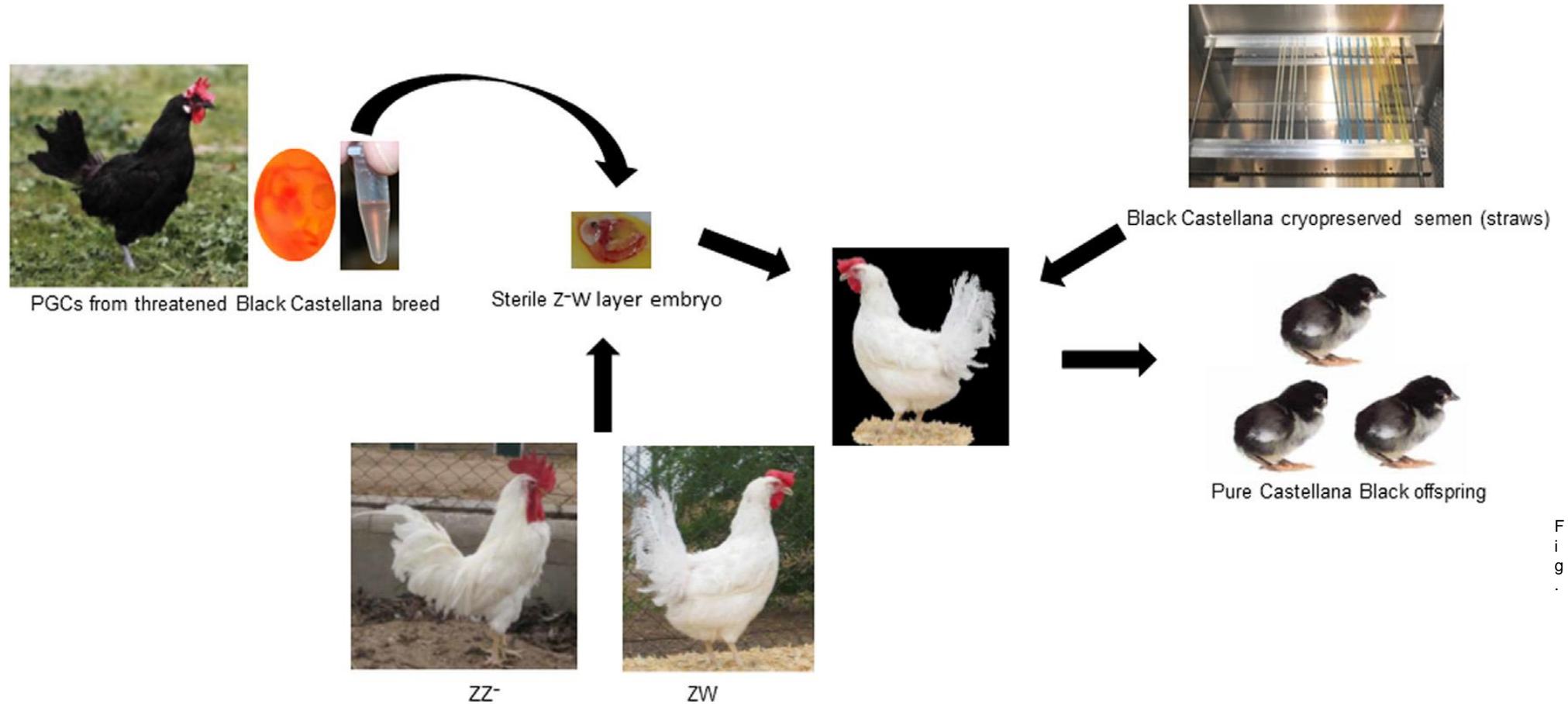


Fig.

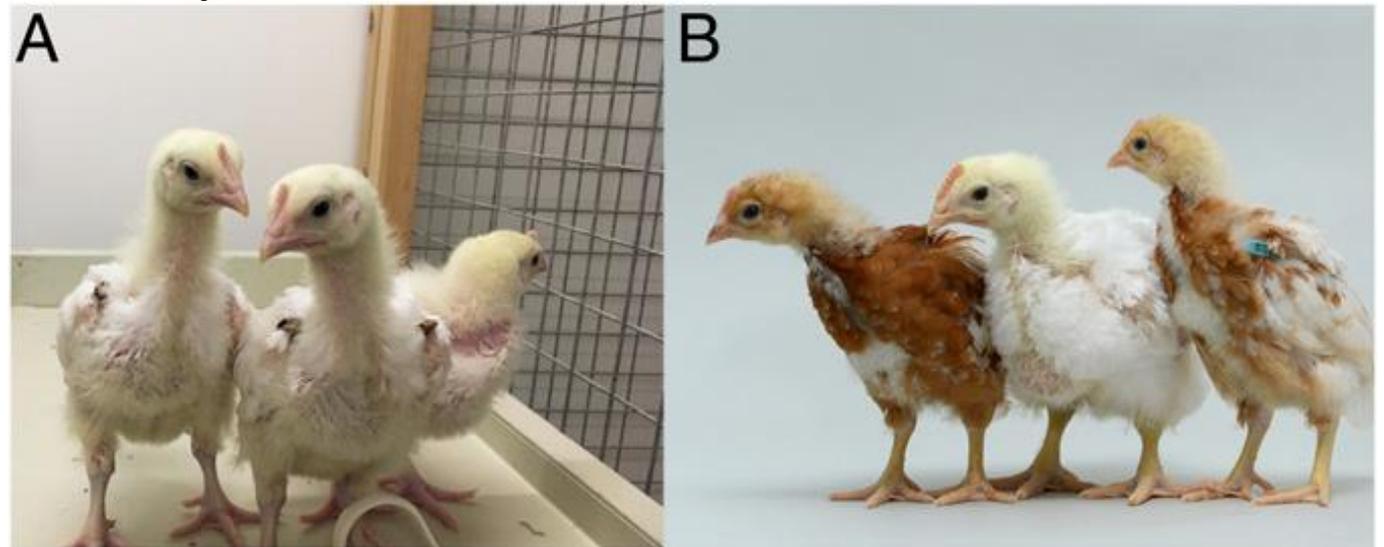
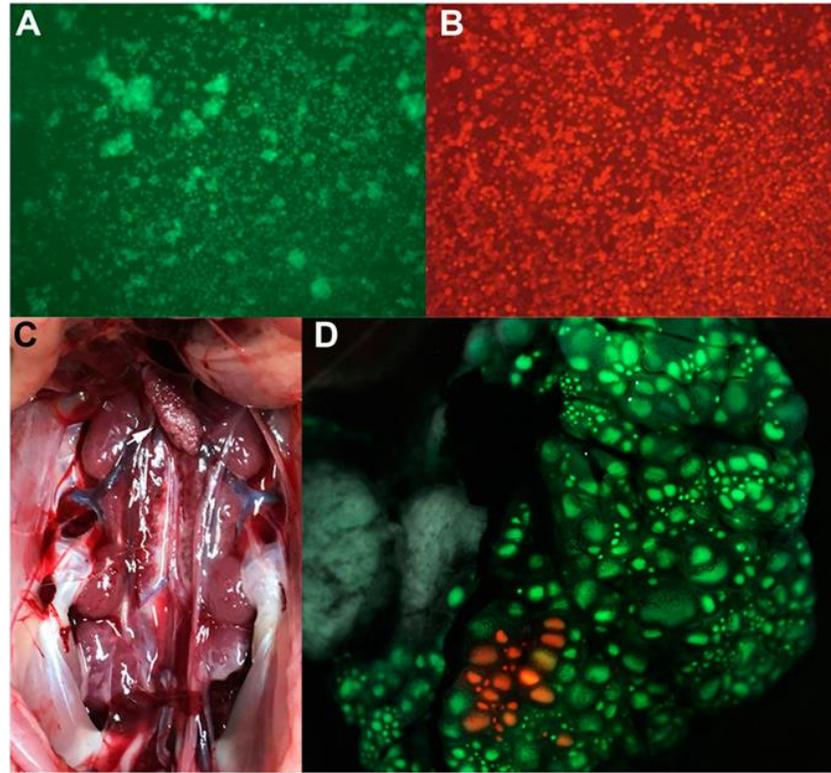
J. Santiago-Moreno , E. Blesbois Animal board invited review: Germplasm technologies for use with poultry Animal

Volume 16, Issue 3, March 2022, 100475

<https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100475>

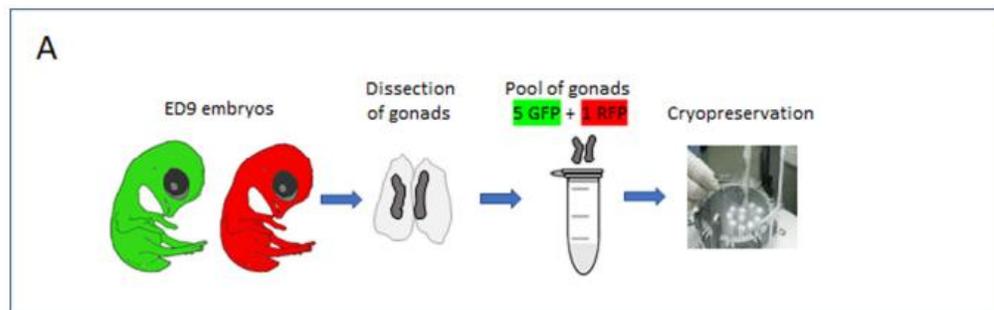
К недостаткам метода следует отнести получение химерного потомства зародышевой линии.

Пример. Pure offspring produced from DDX4 Z- W hens using heritage broiler semen. (A) Fresh or (B) cryopreserved semen pooled from 3 adult males was used to fertilize a DDX4 Z- W founder female. The pure line Vantress chick in B is shown surrounded by 2 control layer offspring.

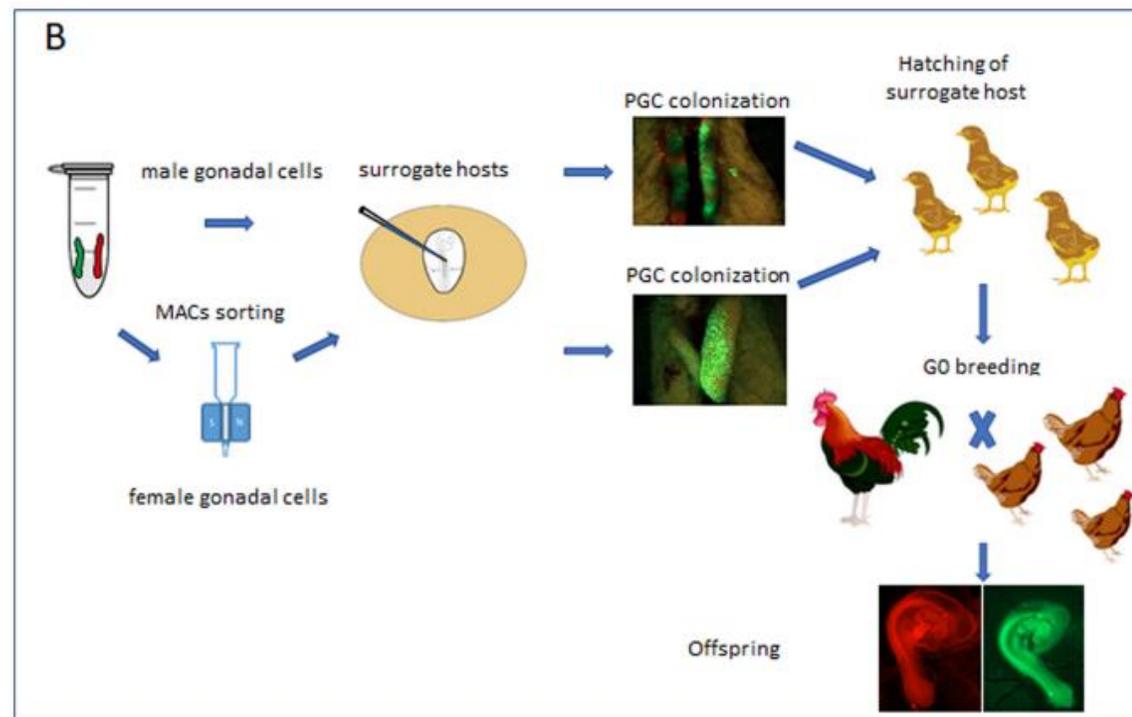


Proceedings of the National Academy of Sciences Vol. 116, No. 42 October 15, 2019 Mark E. Woodcock, Almas A. Gheyas, Andrew S. Mason, Sunil Nandi, Lorna Taylor, Adrian Sherman, Jacqueline Smith, Dave W. Burt, Rachel Hawken, and Michael J. McGrew *Hideformat_quote*CITE © 2019 <https://doi.org/10.1073/pnas.1906316116> Reviving rare chicken breeds using genetically engineered sterility in surrogate host birds

МЕТОД ИНТРАОВАРИАЛЬНОЙ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ЖЕНСКИХ ГАМЕТ С.-Х. ПТИЦ



Isolation and cryopreservation of embryonic gonads followed by transmission through sterile surrogate hosts. (A) Embryonic day (ED) 9 gonads are isolated from embryos, pooled by sex, and cryopreserved in liquid N₂. (B) The frozen gonads are thawed, dissociated, and injected into sterile surrogate host embryos. The surrogate host embryos are incubated and hatched and bred to hatch donor gonadal offspring



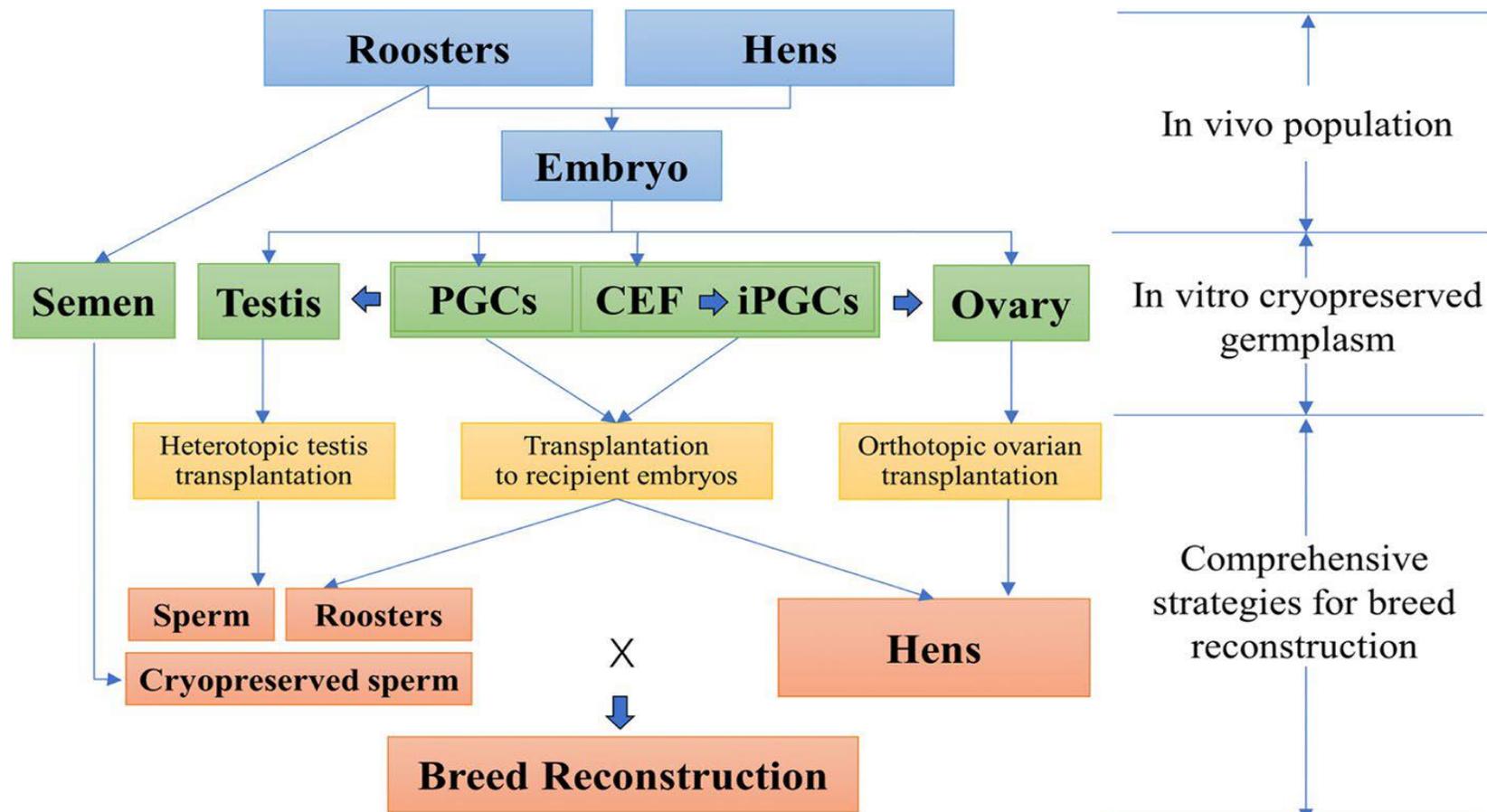
Известно, что исходная популяция PGCs быстро увеличивается после колонизации зачатка гонад и насчитывает многие десятки тысяч митотически делящихся клеток.

За этой пролиферативной фазой следует мейотическое вступление женских гонадных зародышевых клеток на 15-й эмбриональный день. Зародышевые клетки женских гонад, повторно введенные в эмбрионы на миграционной стадии, будут повторно мигрировать и колонизировать гонаду хозяина (Tajima et al., 1998; Naito et al., 2007).

Фактически, исследователи продемонстрировали, что половые клетки гонад колонизируют гонаду хозяина и образуют как функциональные гаметы, так и потомство (Tajima et al., 1998; Mozdziak et al., 2006).

Таким образом, гонадные половые клетки должны быть достаточными для биобанкинга и восстановления породы кур в сочетании со стерильной птицей-хозяином.

Объединенная схема современных методов сохранения и восстановления пород с.-х. птиц



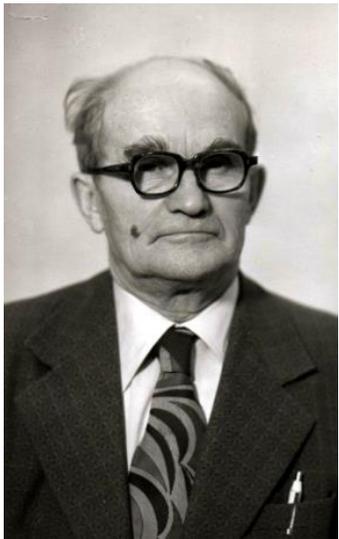
Процесс замораживания-оттаивания может вызывать клеточные и молекулярные модификации, оказывающие пагубное воздействие на генетическую стабильность

- Процесс криоконсервации не только изменяет структуру и функцию сперматозоидов, но и провоцирует **фрагментацию хроматина и повреждения ДНК**. В исследовании на человеке показано, что криоконсервация вызывает **изменения транскриптома сперматозоидов** - установлено более низкое содержание транскриптов в замороженной и витрифицированной сперме, чем в свежих образцах (*Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25(7), 4131; <https://doi.org/10.3390/ijms25074131>.)
- Установлено, что **клеточные и эпигенетические модификации** являются основными причинами, лежащими в основе снижения подвижности и фертильности сперматозоидов петухов в процессе замораживания-оттаивания. Экспериментально доказано, что **состав криопротекторной среды** может не оказывать влияния на процесс метилирования ДНК сперматозоида, но при этом приводит к значительному изменению степени **ацетилирования гистона H3K9 и метилирования H3K4** у кур по сравнению со свежей спермой (Masoumeh Salehi et al, 2020; Beck D. et al, 2021)
- В литературе имеются данные о том, что после размораживания сперматозоиды с фрагментированной ДНК **могут иметь увеличенную длину теломер и измененную экспрессию генов у эмбрионов рыб**. (Sun et al. *Journal of Animal Science and Biotechnology* (2022) 13:115 <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00768-2>)
- Отцовские регуляторные факторы играют важную роль в формировании пронуклеусов, временном порядке деления бластомеров, активации зиготического генома, развитии эмбрионов и даже фенотипе потомства. **Стресс изменяет профиль microRNA и вызывает нарушения в развитии эмбрионов**. Ранние эмбрионы, полученные при использовании оттаянного семени, демонстрируют транскриптомные изменения, которые могут поставить под угрозу их развитие (doi: 10.1101/gr.252981.119)
- Установлено, что около 10% эмбриональной РНК имеет отцовское происхождение, которая, в свою очередь, подвержена **эпигенетическому воздействию в процессе криоконсервации семени** (doi: 10/15252/embj.201488117)

Направления дальнейших исследований

- **Исследования, направленные на характеристику транскриптов, уровни которых изменяются после криоконсервации, могут выявить потенциальные маркеры восприимчивости сперматозоидов к криоповреждениям и будут полезны в создании новых стратегий замораживания.**
- **Исследования с использованием полногеномного секвенирования необходимы для проверки различных типов изменений ДНК, таких как замены нуклеотидов, делеции и вставки. Это может привести к более критической оценке долгосрочной судьбы криоконсервированных материалов и эффективности криоконсервации**
- **Необходимо изучение влияния существующих протоколов замораживания/оттаивания семени птиц на трансгенеративное эпигенетическое наследование репродуктивных признаков с целью разработки новых подходов в криоконсервации.**

Исследования ВНИИГРЖ в области сохранения генетических ресурсов с.-х. птиц методами *in vitro*.



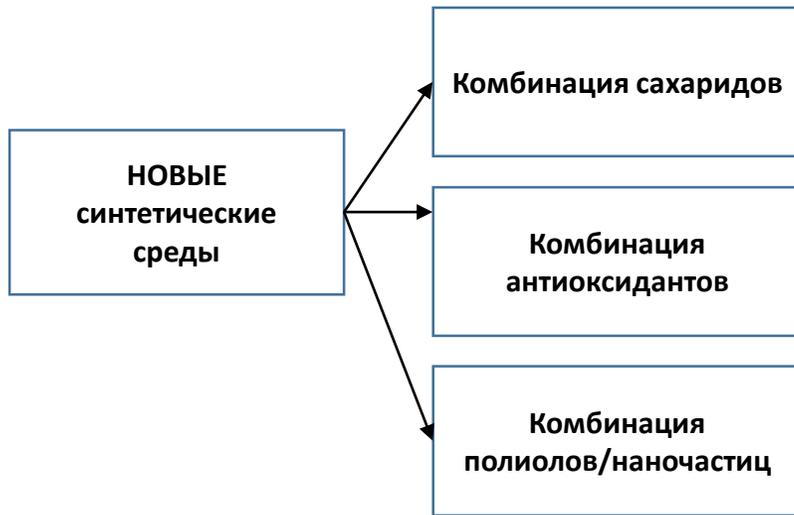
Под руководством доктора с.-х. наук, профессора **А. Д. Курбатова** в 70-е годы XX века начаты исследования по разработке принципиально новых способов криоконсервации спермы самцов птиц, позволяющих сохранять генофонд исчезающих пород и видов, использовать заморожено-оттаянную сперму самцов с высокой племенной ценностью и при этом сохранять её высокую оплодотворяющую способность.

В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ сотрудники отдела генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов с.-х. птиц ВНИИГРЖ продолжают исследования по криоконсервации семени птиц в следующих направлениях:

- разработка методов оценки и отбора самцов по криоустойчивости их семени с целью создания криобанка; исследования по генетической обусловленности криоустойчивости семени;
- создание новых составов сред для криоконсервации семени самцов с.-х. птиц, обеспечивающих высокий уровень сохранности мембран сперматозоидов и их органоидов, хроматина, кинетического аппарата и, как следствие, фертильности;
- разработка методов интраовариальной криоконсервации клеток-предшественников женских гамет для сохранению генофонда с.-х. птиц;
- совершенствование методов оценки функциональной полноценности сперматозоидов *in vitro*;
- создание каталогизированного криобанка семени с.-х. птиц 40 пород и популяций



СИНТЕТИЧЕСКИЕ СРЕДЫ ДЛЯ ЗАМОРАЖИВАНИЯ СЕМЕНИ ПЕТУХОВ



ВНИИГРЖ (2019-2022гг)

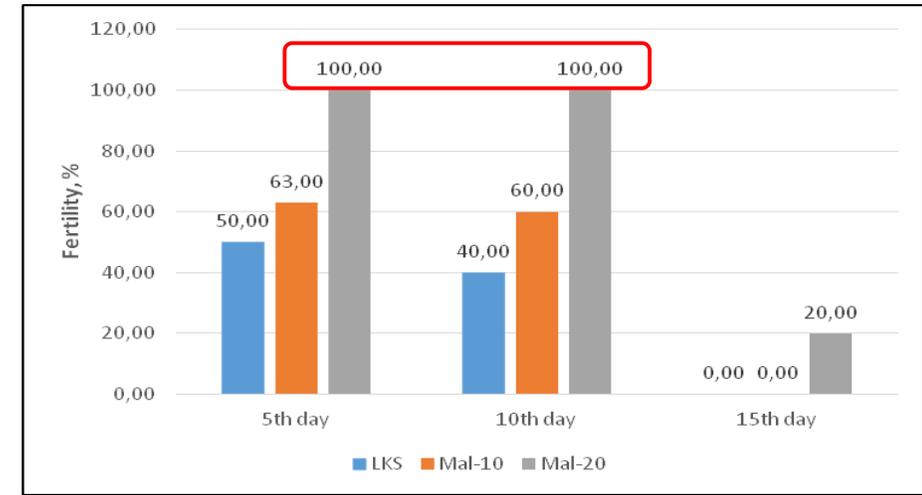
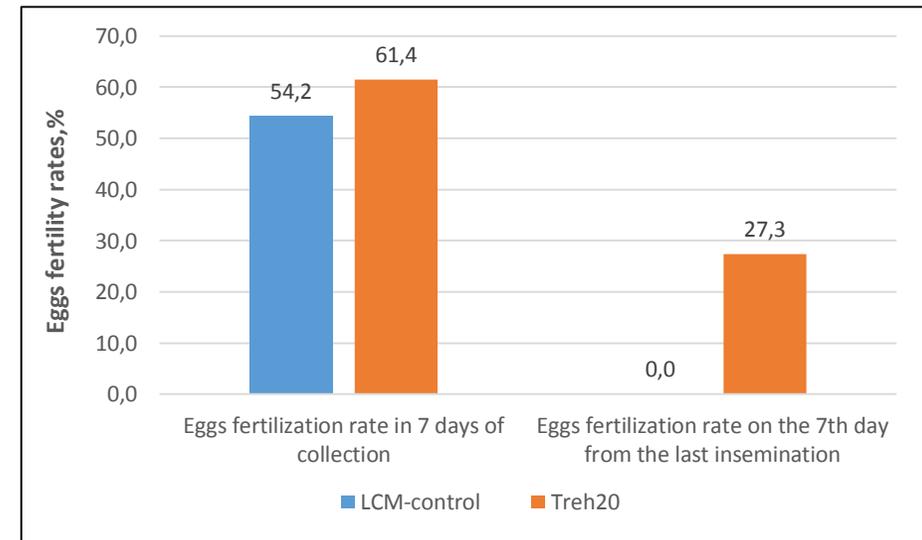


Table 5. Fertility and embryo viability after artificial insemination of frozen/thawed ejaculates in Bionda Piemontese (BP1, BP4 and BP17), Bianca di Saluzzo (BS28, BS35 and BS36) and Pepoi (PP10, PP19 and PP20) Italian chicken breeds.

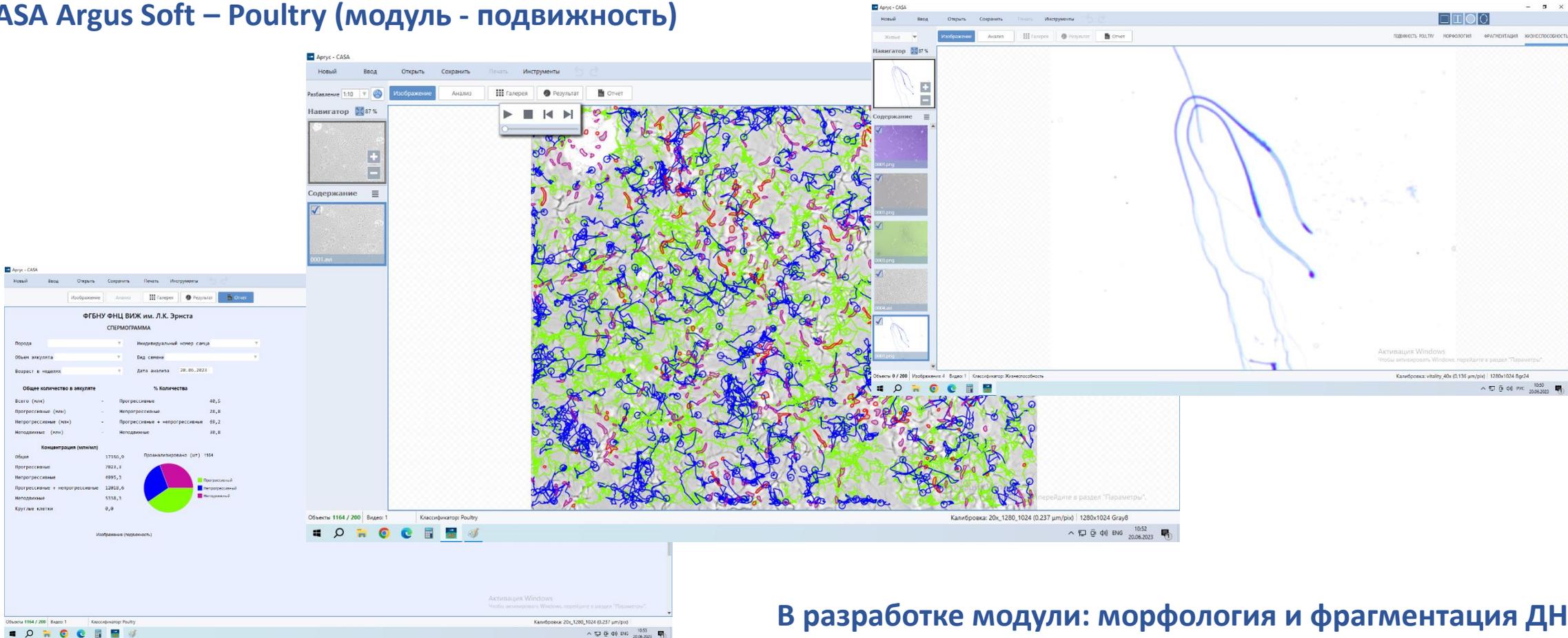
	BP1	BP4	BP17	BS28	BS35	BS36	PP10	PP19	PP20	Overall Value
Fertility ¹ (%)	2.7 ^a	6.98 ^a	4.35 ^a	7.5	31 ^a	8.45	21.74	5.56 ^a	20.55	16.43 ^b
Fertile eggs/eggs set (n/n)	(2/74)	(6/86)	(3/69)	(6/80)	(19/62)	(6/71)	(15/69)	(4/72)	(15/73)	(114/694)
Embryo viability ² (%)	0	66.67	0	66.67	94.74	57.14	73.33	25.00	100	78.26
Live embryos/fertile eggs (n/n)	(0/2)	(4/6)	(0/3)	(4/6)	(18/19)	(3/6)	(11/15)	(1/4)	(15/15)	(89/114)

^{a,b}. Different letters within a row indicate a significant difference between the bird and the overall mean value ($p < 0.001$). ¹ Fertility = (fertile eggs/eggs set) × 100. ² Embryo viability = (live embryos/fertile eggs) × 100.



Разработка и использование программных продуктов по оценке качественных показателей с.-х. птиц

CASA Argus Soft – Poultry (модуль - подвижность)



В разработке модули: морфология и фрагментация ДНК

Создание и пополнение криобанка семени петухов генофондных пород и электронного каталога.



№ кластера	Состав кластера	Дата закладки	Размещение в хранилище	Качество нативной		Качество замороз./оттаян.		Количество доз, ед.	Текущий остаток, ед.	Изъято доз		
				концентрация, млрд/млЗ	% общей подвижности	концентрация, млрд/млЗ	% общей подвижности			Дата	ФИО, цель	Количество, ед.
1	X1660	сентябрь, 2019	Инвентаризационный номер пакет 19/001	2,7-3,3	90	1,5	40	77	77			
	X1805											
2	X1765	сентябрь, 2019	Инвентаризационный номер пакет 19/001	2,2-2,8	85	1,4	50	84	84			
	B9166											
3	X1447	сентябрь, 2019	Инвентаризационный номер пакет 19/001	2,7-3,3	85	1,5	30	127	127			
	X1759											
4	X1551	сентябрь, 2019	Инвентаризационный номер пакет 19/001	2,7-3,3	85	1,5	50	99	99			
	X1539											
5	B9154	сентябрь, 2019	Инвентаризационный номер пакет 19/001	3,5	90	1,8	40	108	108			
	X1991											
6	X1660	сентябрь, 2019	Инвентаризационный номер пакет 19/001	2,0-2,5	80	1	40	60	60			
	X1805											
	X1738											
7	X1765	сентябрь, 2019	Инвентаризационный номер пакет 19/001	2,5-2,7	90	1,2	20	61	61			
	X1998											
8	X1998	сентябрь, 2019	Инвентаризационный номер пакет 19/001	2,5	80	1,3	30	42	42			
ИТОГО ЗАЛОЖЕНО									658			

Русская белая УИН 001РБ

Гамбургская УИН002ГАМ

Китайская шелковая УИН003КШ

Чешск ...

Article

Trehalose as a Stabilizer of the Lipid Composition of Membranes and the Composition of the Cytosol of Frozen/Thawed Rooster Spermatozoa

Olga Stanishevskaya ¹, Yulia Silyukova ^{1,*} , Vera Tereshina ², Elena Ianut Anton Kurochkin ¹ and Elena Fedorova ¹



animals



Article

Effects of Trehalose Supplementation on Lipid Composition of Rooster Spermatozoa Membranes in a Freeze/Thaw Protocol

Olga I. Stanishevskaya ¹, Yulia Silyukova ^{1,*} , Elena Fedorova ¹ , Nikolai Pleshanov ¹, Anton Kurochkin ¹, Vera M. Tereshina ² and Elena Ianutsevich ²

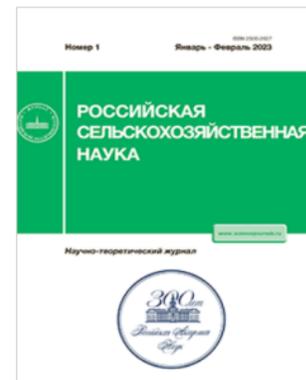
Российская сельскохозяйственная наука, 2023, № 5, стр. 64–68

ИЗМЕНЕНИЕ КИНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СПЕРМАТОЗОИДОВ ПЕТУХОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Ю.Л. Силукова, Е.С. Федорова, О.И. Станишевская

EDN: PREPJB

DOI: 10.31857/S2500262723050125



2019-22

Journal Pre-proof

Oryxology

A successful protocol for achieving suboptimal of Gallus Gallus Domesticus spermatosa while maintaining their fertility IN VIVO

Olga Shambhukova^{1,2}, Yulia Siljakova^{1,2,3}, Nikolay Pribludny^{1,2}, Anton Korotkiy^{1,2}, Elena Fedorova^{1,2}, Alina A. Fedina^{1,2}

¹Research Institute of the State Science and Technology - Branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Moscow, Russia; ²Research Institute of the State Science and Technology - Branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Moscow, Russia; ³Department of Biology of the Moscow State University, Moscow, Russia

ARTICLE INFO

KEYWORDS

ABSTRACT

ARTICLE HISTORY

1. Introduction

2. Materials and Methods

3. Results and Discussion

4. Conclusion

5. Acknowledgments

6. References

Animal Reproduction Science

Volume 206, September 2020, 106575

Modification of cock's sperm fertility evaluation method in vitro

Olga Shambhukova^{1,2}, Yulia Siljakova^{1,2,3}, Nikolay Pribludny^{1,2}, Anton Korotkiy^{1,2}, Elena Fedorova^{1,2}, Alina A. Fedina^{1,2}

ARTICLE INFO

KEYWORDS

ABSTRACT

ARTICLE HISTORY

1. Introduction

2. Materials and Methods

3. Results and Discussion

4. Conclusion

5. Acknowledgments

6. References



animals

Effects of Trehalose Supplementation on Lipid Composition of Rooster Spermatozoa Membranes in a Freeze/Thaw Protocol

Olga Shambhukova^{1,2}, Yulia Siljakova^{1,2,3}, Elena Fedorova^{1,2}, Nikolay Pribludny^{1,2}, Anton Korotkiy^{1,2}, Alina A. Fedina^{1,2}

¹Research Institute of the State Science and Technology - Branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Moscow, Russia; ²Research Institute of the State Science and Technology - Branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Moscow, Russia; ³Department of Biology of the Moscow State University, Moscow, Russia

ARTICLE INFO

KEYWORDS

ABSTRACT

ARTICLE HISTORY

1. Introduction

2. Materials and Methods

3. Results and Discussion

4. Conclusion

5. Acknowledgments

6. References

molecules

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

Olga Shambhukova^{1,2}, Yulia Siljakova^{1,2,3}, Nikolay Pribludny^{1,2}, Anton Korotkiy^{1,2}

¹Research Institute of the State Science and Technology - Branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Moscow, Russia; ²Research Institute of the State Science and Technology - Branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Moscow, Russia; ³Department of Biology of the Moscow State University, Moscow, Russia

ARTICLE INFO

KEYWORDS

ABSTRACT

ARTICLE HISTORY

1. Introduction

2. Materials and Methods

3. Results and Discussion

4. Conclusion

5. Acknowledgments

6. References



P49

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

Olga Stanishevskaya , Yulia Silyukova , Nikolay Pleshanov, Anton Kurochkin, Elena Fedorova, Zoya Fedorova, Oksana Perinek, Inessa Meftah, Anatoliy Vahrameev

Show more

+ Add to Mendeley Share Cite

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106409>

[Get rights and content](#)

ГЕНЕТИКА ЖИВОТНЫХ
Обзор / Review

Вавилонский 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



P17

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

Yulia Silyukova , Olga Stanishevskaya, Nikolay Pleshanov, Anton Kurochkin

Show more

+ Add to Mendeley Share Cite

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106377>

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2020, том 55, № 6, с. 1148-1158

УДК 636.5:591.15:611.013.11:57.04

doi: 10.15389/agrobiology.2020.6.1148rus

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМБИНАЦИЙ САХАРИДОВ В СРЕДАХ ДЛЯ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМЫ ПЕТУХОВ*

Ю.Л. СИЛЮКОВА , О.И. СТАНИШЕВСКАЯ, Н.В. ПЛЕШАНОВ, А.А. КУРОЧКИН

Различные комбинации сахаридов могут обеспечить эффективную защиту семени во время цикла замораживания/оттаивания. До настоящего времени дисахарид мальтоза не использовался в качестве компонента среды для криоконсервации семени петухов. Поскольку мальтоза не участвует в углеводном обмене сперматозоидов, есть предположение о ее роли в укреплении структуры гликокаликса. В представленной работе впервые доказана эффективность использования мальтозы в сочетании с фруктозой в составе разбавителя для повышения оплодотворяющей способности заморожено-оттаявшего семени петухов. Целью работы было определение оптимальной концентрации мальтозы в составе разбавителя для замораживания семени петухов в возрасте 44-50 нед и установление сроков сохранения функциональной полноценности заморожено-оттаявшего семени в половых путях курицы. Эксперимент проводился в ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» (ВНИИГРЖ) на курах (*Gallus gallus* L.) породы русская дая ($\sigma^7 = 10$, $\phi^7 = 30$) в возрасте 44-50 нед. Сперму получали методом абдоминального массажа. Оценивали три варианта сред для криоконсервации семени с различным соотношением сахаридов: Mal-10 (фруктоза 0,72 %, мальтоза 0,166 %), Mal-20 (фруктоза 0,72 %, мальтоза 0,332 %) и ЛКС-контроль (Ленинградская криозащитная среда). Завяленные образцы семени охлаждали с 18 до 5 °С в течение 1 мин. Гранулы замораживали, накапывая семя в жидкий азот в течение 30 сут. Гранулы размораживали в питательную среду с помощью визуализирующей системы CASA (computer-assisted sperm analysis). Семена отобраны виргинных кур в возрасте 46-50 нед ($n = 10$). Кур осеменяли интравaginaльно разовыми суточными порциями семени: в течение первых 2 сут по одному осеменению в сутки. Яйца для инкубации собирали ежедневно в течение 9 сут. Яйца ($n = 239$) инкубировали 6 сут для определения оплодотворенности по наличию бластомеров. Гранулы размораживали в питательную среду с помощью визуализирующей системы CASA (computer-assisted sperm analysis). Семена отобраны виргинных кур в возрасте 46-50 нед ($n = 10$). Кур осеменяли интравaginaльно разовыми суточными порциями семени: в течение первых 2 сут по одному осеменению в сутки. Яйца для инкубации собирали ежедневно в течение 9 сут. Яйца ($n = 239$) инкубировали 6 сут для определения оплодотворенности по наличию бластомеров. Гранулы размораживали в питательную среду с помощью визуализирующей системы CASA (computer-assisted sperm analysis). Семена отобраны виргинных кур в возрасте 46-50 нед ($n = 10$). Кур осеменяли интравaginaльно разовыми суточными порциями семени: в течение первых 2 сут по одному осеменению в сутки. Яйца для инкубации собирали ежедневно в течение 9 сут. Яйца ($n = 239$) инкубировали 6 сут для определения оплодотворенности по наличию бластомеров.



animals

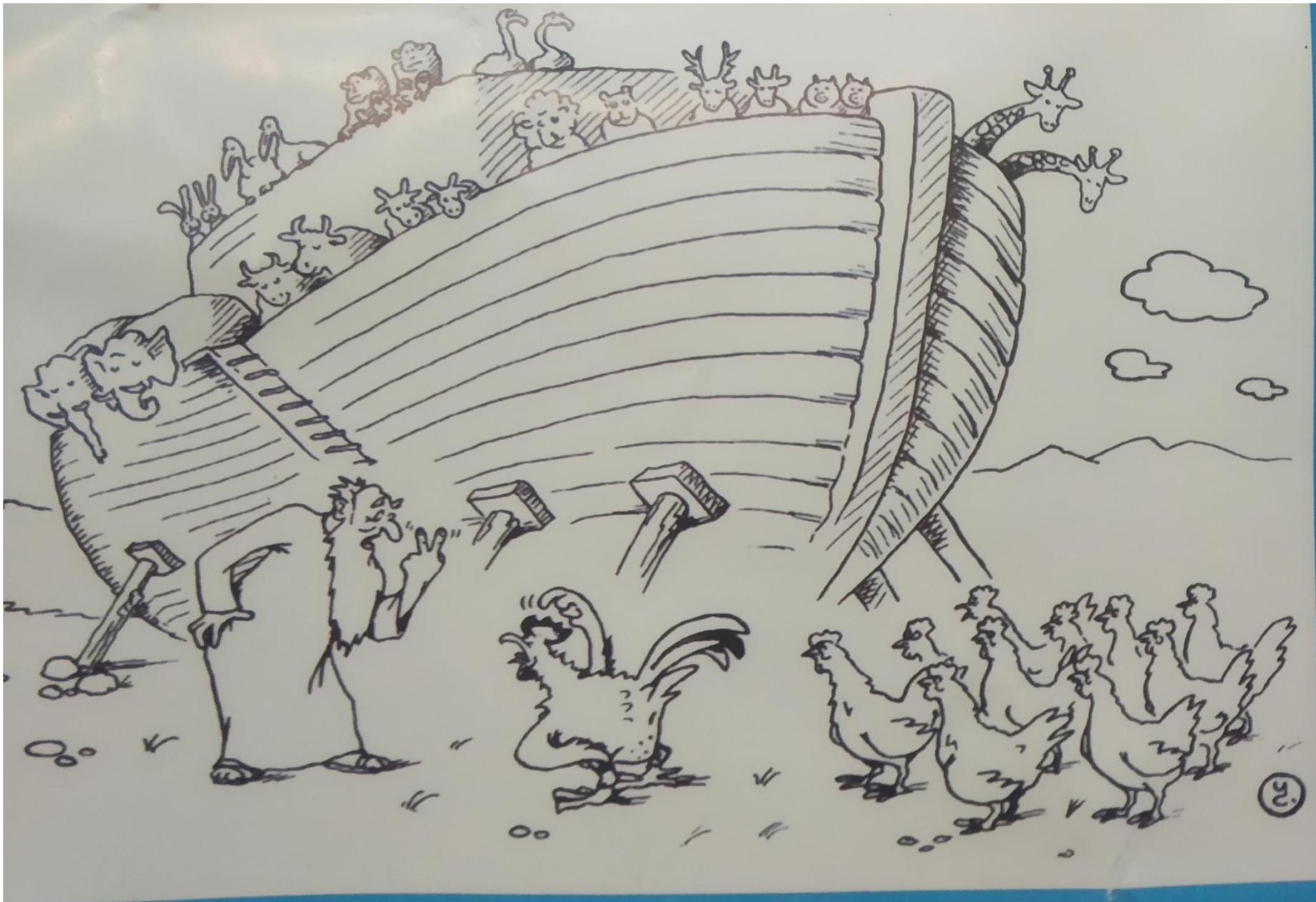
an Open Access Journal by MDPI

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 Pleshanov; Anton Kurochkin; Elena Fedorova; Zoya Fedorova; Oksana Perinek; Anna Prituzhalova; Inessa Meftakh

Animals 2021, Volume 11, Issue 1, 189





Благодарю
за внимание!