

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СПЕРМЫ В НАТИВНЫХ ЭЯКУЛЯТАХ ПЕТУХОВ НА КИНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАЗМОРОЖЕННЫХ ГАМЕТ

Антон Алексеевич Курочкин¹, Анна Олеговна Притужалова², Татьяна Ивановна Кузьмина^{3✉}

^{1,2,3}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», Российская Федерация

¹младший научный сотрудник лаборатории биологии развития, orcid.org/0000-0003-4430-4770

²научный сотрудник лаборатории биологии развития, orcid.org/0000-0002-2865-9582

³д-р биол.наук, проф., главный научный сотрудник, руководитель лаборатории биологии развития, email: prof.kouzmina@mail.ru, orcid.org/0000-0002-4218-6080

РЕФЕРАТ

Одним из способов повышения эффективности искусственного осеменения у птиц является ранний отбор самцов, продуцирующих сперму с высокими показателями криорезистентности. Первичная оценка эякулятов играет важную роль в прогнозировании жизнеспособности и может стать основой для разработки критериев качества декриоконсервированного семени. В проведенном нами исследовании на выборке петухов (n=139) от 20 пород и популяций были выявлены прогностические признаки, позволяющие на основе оценки показателей нативных эякулятов, сделать выводы о функциональной активности декриоконсервированных сперматозоидов. При концентрации сперматозоидов в нативном эякуляте 3,500 млрд/мл после криоконсервации отмечен максимальный процент гамет с высокими кинетическими показателями (38,12±1,68%). А максимальный процент декриоконсервированных сперматозоидов с высокими показателями общей подвижности (37,05±1,03%) был получен в случае замораживания образцов нативной спермы с общей подвижностью выше 85%.

Ключевые слова: криоконсервация, сперма петухов, концентрация, кинетические показатели, отбор особей.

Для цитирования: Курочкин А.А., Притужалова А.О., Кузьмина Т.И. Влияние концентрации спермы в нативных эякулятах петухов на кинетические показатели размороженных гамет. Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. 2026;2:111-116. <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2026.2.111>

ROLE OF CONCENTRATION AND KINETIC CHARACTERISTICS OF ROOSTER'S NATIVE EJACULATES IN SPERM CRYORESISTANCE FORMATION

Anton Al. Kurochkin¹, Anna Ol. Prituzhalova², Tatyana Iv. Kuzmina^{3✉}

^{1,2,3}All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals – Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center for Animal Husbandry – All-Russian Research Institute of Livestock Breeding named after Academician L.K. Ernst,” Russian Federation

¹Junior Researcher, Developmental Biology Laboratory

²Researcher, Developmental Biology Laboratory

³Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Researcher, Head of the Developmental Biology Laboratory, email: prof.kouzmina@mail.ru

ABSTRACT

One of the ways to improve efficiency of artificial insemination in poultry is early selection of males producing sperm with high cryoresistant properties. Initial ejaculate evaluation plays an important role in predicting viability and can serve as basis for developing quality criteria for decryopreserved semen. In our study, which involved roosters (n=139) from 20 breeds and populations, we identified prognostic indicators that allow us to draw conclusions about the functional activity of decryopreserved sperm based on native ejaculate parameters. At sperm concentration of 3.5 billion/ml in native ejaculate after cryopreservation, was observed the highest percentage of gametes with high kinetic parameters (38.12±1.68%). Maximum percentage of decryopreserved spermatozoa with high rates of total motility (37.05±1.03%) was obtained in the case of freezing native sperm samples with total motility above 85%.

Key words: cryopreservation, rooster sperm, cryoresistance, selection of individuals.

For citation: Kurochkin A.A., Prituzhalova A.O., Kuzmina T.I. Role of concentration and kinetic characteristics of rooster's native ejaculates in sperm cryoresistance formation. Legal regulation in veterinary medicine. 2026;2:111-116. (in Russ) <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2026.2.111>

ВВЕДЕНИЕ

Криоконсервация спермы петухов на сегодняшний день является одним из наиболее эффективных методов, позволяющим сохранять

генетические ресурсы сельскохозяйственной птицы [1]. Однако, в отличие от спермы ряда других сельскохозяйственных видов животных, где криоконсервация спермы применяется на коммерческой основе, криоконсервация спермы

петухов не нашла широкого применения в птицеводстве, главным образом ввиду низких показателей фертильности, наблюдаемых у заморожено/размороженного семени [2].

Успех технологических этапов криоконсервации спермы, проявляющийся в сохранении сперматозоидами функциональной целостности и жизнеспособности, зависит от множества факторов, в том числе от выбора состава разбавителя для спермы, типа криопротектора, протокола криоконсервации, способа упаковки образцов, выбранного температурного режима оттаивания спермы, а также, породной принадлежности или селекционной линии [3,4,5]. Уникальные характеристики сперматозоидов птицы, такие как нитевидная форма головки, диаметр которой приближается к диаметру хвоста, длинный, относительно головки жгутик, небольшой объем цитоплазмы, высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот в составе плазматической мембраны сперматозоидов делают их более восприимчивыми, по сравнению с другими видами, к повреждениям механического и химического характера в процессе криоконсервации [6,7].

Разработка и внедрение тест систем для предиктивного анализа показателей заморожено/оттаянных сперматозоидов, позволит повысить эффективность технологий искусственного осеменения и криоконсервации мужских гамет *Gallus gallus d.* и осуществлять раннее прогнозирование (на ранних этапах онтогенеза) фертильности самцов. Использование маркерных признаков, детектируемых в образцах нативной спермы, указывающих на подвижность заморожено/оттаянного семени, позволили бы проводить ранний скрининг популяции самцов с целью определения потенциала фертильности декриоконсервированного семени, поскольку рядом исследований была установлена положительная корреляция между общей подвижностью сперматозоидов и потенциалом оплодотворения [10,11], а высокая вариабельность кинетических показателей спермы после криоконсервации, показывает перспективность данного подхода [12].

Цель данного исследования - выявить критерии первичной оценки свежеполученных эякулятов для раннего отбора петухов с высокими показателями функциональной активности заморожено/оттаянного семени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное поголовье и первичная оценка свежеполученных эякулятов

В исследовании использовались петухи, отобранные от 20 пород и популяций в количестве 139 голов, в возрасте 48-56 недель жизни, «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур», ВНИИГРЖ. Получение спермы происходило методом абдоминального массажа (Burrows W. и Quinn J., 1937) г., в пенициллиновые флаконы. От каждого петуха сперму брали не менее трех повторностей. Оценку общей подвижности образцов нативных эякулятов и заморожено/оттаянного семени проводили с помощью компьютерной системы анализа подвижности сперматозоидов (Аргус-CASA, Санкт-

Петербург). Концентрацию спермы определяли с помощью спектрофотометра (IMV, США)

Криоконсервация спермы

Полученные эякуляты разбавляли ЛКС-1 (Ленинградская криозащитная среда), разработка ВНИИГРЖ (авторское свидетельство № 1130339) и помещали для эквilibрации в холодильную камеру ($t = 5^{\circ}\text{C}$) на 40 мин. В качестве криопротектора использовали N, N-диметилацетамид (DMA). Добавление DMA осуществлялось после эквilibрации эякулятов в количестве, соответствующем конечной концентрации 6%. После внесения DMA образцы снова помещали в холодильную камеру на 1 мин. для уравнивания температуры. Криоконсервация производилась в гранулах, по методике, разработанной Нарубиной Л. Е., Курбатовым А. Д. и др. Семя набирали в капиллярную пипетку и накапывали в жидкий азот с расстояния 7,5 см от поверхности ($-41,4^{\circ}\text{C}$). Контроль положения пипетки осуществляли с помощью термодатчика (Temperature measuring instrument THERM 2420, AHLBORN). Скорость раскапывания составляла ~ 1,4 гранулы в секунду. Размораживание гранул проводили на нагретой металлической пластине ($t = 60^{\circ}\text{C}$), (разработка ВНИИГРЖ, 1989).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Подвижность сперматозоидов является ключевым параметром при оценке качества спермы, ее способности к оплодотворению и криорезистентности [13]. Логичным представляется использования показателя – «подвижность мужских гамет» в качестве базового критерия для идентификации перспективных биомаркеров их фертильности и криорезистентности, основываясь на корреляционном анализе. В нашем исследовании образцы свежеполученных эякулятов и заморожено/оттаянного семени оценивали по общей подвижности сперматозоидов. Концентрацию сперматозоидов определяли в свежеполученных эякулятах до разбавления спермы. Средняя концентрация сперматозоидов петухов составила $3,130 \pm 0,082$ млрд/мл. Значения находились в пределах от 0,844 до 5,331 млрд/мл, а коэффициент вариации составил 26,69%, что указывает на высокую индивидуальную изменчивость данного показателя.

Общая подвижность нативных эякулятов в среднем составила $83,86 \pm 0,42$, при лимитах от 60 до 91,30%, и коэффициенте вариации 6,10%. Результаты демонстрируют гомогенность исследуемой выборки по вышеобозначенному показателю. Выявленный коэффициент корреляции между концентрацией сперматозоидов и показателем общей подвижности нативной спермы ($r=0,28$, $p<0,001$) свидетельствует о вовлеченности данного показателя в формирование кинетического потенциала сперматозоидов, (Рисунок 1).

Общая подвижность заморожено/оттаянного семени составила – $34,92 \pm 0,86\%$, при лимитах от 5,00 до 67,00% и коэффициенте вариации 29,70%. Полученные данные указывают на высокую индивидуальную изменчивость вышеобозначенного показателя и согласуются с результатами исследований других авторов, подтверждающих наличие субпопуляций самцов с высокой и низкой общей подвижностью заморожено/оттаянного семени в общей популяции [14,15].

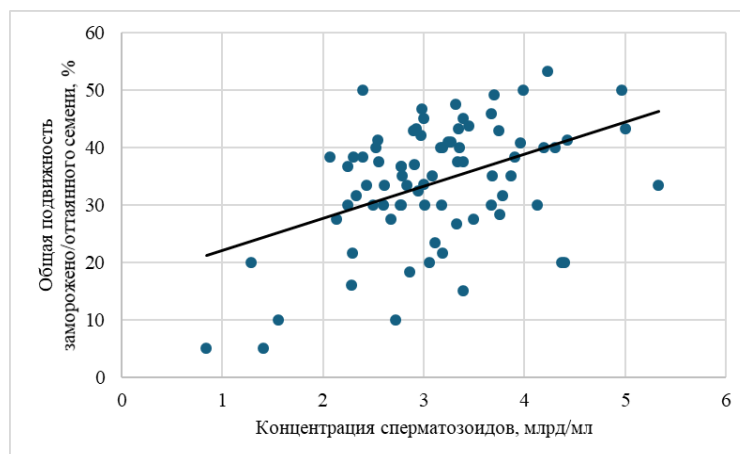


Рисунок 1. Общая подвижность сперматозоидов петухов в связи с концентрацией декриоконсервированного семени петухов, (n=79).

Figure 1. Overall rooster sperm motility in relation to the concentration of decryopreserved rooster semen (n=79).

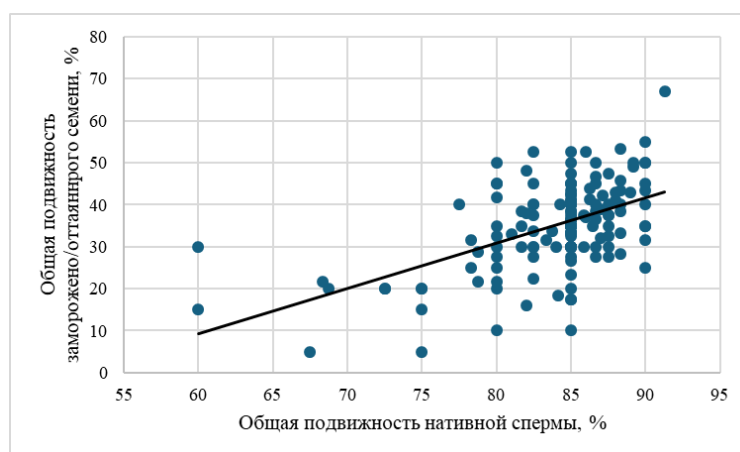


Рисунок 2. Общая подвижность декриоконсервированного семени петухов в связи с общей подвижностью нативных эякулятов, (n=139).

Figure 2. Total motility of decryopreserved rooster semen in relation to total motility of native ejaculates (n=139).

О возможности использования показателей общей подвижности в качестве превентивного индикатора качества декриоконсервированной спермы свидетельствует установленная корреляция между общей подвижностью сперматозоидов в свежеполученных эякулятах и общей подвижностью заморожено/оттаянного семени петухов ($0,53$, $p < 0,001$), (Рисунок 2). В экспериментах также обнаружена корреляция между концентрацией сперматозоидов и общей подвижностью заморожено/оттаянного семени ($0,42$, $p < 0,001$).

При расчете референсных значений показателя общей подвижности сперматозоидов, отражающего целесообразность использования самцов для целей криобанкирования нами были получены следующие результаты. Для группы с диапазоном показателей общей подвижности нативной спермы от 60 до 85%, средняя общая подвижность заморожено/оттаянного семени составила $31,26 \pm 1,46\%$, а для значений $< 85\%$ $37,05 \pm 1,03$ ($p < 0,05$).

У групп самцов с более высокой концентрацией спермы и общей подвижностью нативной спермы процент подвижных сперматозоидов в образцах заморожено/оттаянного семени выше,

что свидетельствует о вовлеченности данных показателя в кинетический потенциал сперматозоидов. Вышесказанное подтверждается исследованиями других авторов [16], и указывает на возможность использования данных показателей в качестве стартовых биомаркеров качества декриоконсервированной спермы.

При концентрации сперматозоидов меньше 2,600 млрд/мл средняя общая подвижность заморожено/оттаянной спермы составила $29,37 \pm 2,21$, при концентрации сперматозоидов от 2,600 до 3500 млрд/мл - $34,71 \pm 1,25\%$. В случае концентрации сперматозоидов выше 3,500 млрд/мл - $38,12 \pm 1,68$, (Рисунок). Схожие результаты получены в работах Shawky M et al., которые оценивали влияние концентрации сперматозоидов в формировании кинематики заморожено/оттаянного семени и установили, что в группе с высокой концентрацией сперматозоидов значительно выше показатели общей подвижности и скорости движения сперматозоидов. Вышеуказанные авторы также оценили взаимосвязь показателей концентрации и фертильности сперматозоидов и показали, что в группе самцов с высокой концентраци-

ей спермы также отмечена их высокая фертильность [17]. Исследования, проведенные на других видах сельскохозяйственных животных, выявили схожие тенденции и отметили взаимосвязь концентрации спермы и кинетических показателей заморожено/оттаянного семени [18, 19]. Следует отметить что выбранная нами методология криоконсервации была основана на витрификации и использовании гранул в качестве единиц хранения, в то время как в других исследованиях, при криоконсервации с поэтапным снижением температуры и использованием для замораживания соломин были выявлены обратные корреляционные связи между вышеобозначенными показателями спермы [20]. Выявленные факты могут объясняться негативным влиянием активных форм кислорода, генерируемых сперматозоидами. Так, в исследованиях Chaithongsri M. et al и Patricio A. et al было показано, что в образцах спермы петухов с высокой концентрацией гамет отмечены более высокие показатели окислительного стресса, причиной этого может являться ускорение каскада биохимических реакций, протекающих в митохондриях и, как следствие, повышение уровня генерации АФК [21,22]. Можно предположить, что при витрификация спермы петухов уровни генерации активных форм кислорода ниже, чем при медленном замораживании, что и объясняет выявленные различия.

Сравнительный анализ вышеобозначенных показателей между породами выявил достоверные различия между показателями общей подвижности нативной спермы петухов декоративных пород и пород смешанного направления продуктивности, что указывает на возможность влияния направленного се-

лекционного процесса с целью закрепления экстерьерных признаков на репродуктивные показатели самцов. Схожая тенденция сохранилась и после цикла криоконсервации. Для нативной спермы коэффициент вариации общей подвижности не превышал 9,33%, в то время как для заморожено/оттаянного семени, он мог достигнуть 60,61%. Для отдельных пород средняя концентрация сперматозоидов составила: от $2,834 \pm 0,323$ у первомайской породы до $3,892 \pm 0,270$ млрд/мл у брамы палевой (Таблица 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внедрение криоконсервации в отрасль птицеводства сопряжено с рядом трудностей. Разработка новых и совершенствование имеющихся прогностических методов оценки фертильности и криорезистентности мужских гамет птиц, основанных на выявлении особенностей функционирования декриоконсервированных сперматозоидов с использованием комплексных морфофункциональных характеристик, основанных на раннем прогнозировании качества нативной и декриоконсервированной спермы позволит интенсифицировать внедрение технологии искусственного осеменения у птицы и криобанкирование мужских гамет исчезающих и высокоценных пород. В нашем исследовании были выявлены прогностические признаки, способные на ранних этапах оценки нативных эякулятов, сделать выводы о потенциале фертильности декриоконсервированного семени. При концентрации сперматозоидов в нативном эякуляте 3,500 млрд/мл после криоконсервации отмечен максимальный процент гамет с высокими кинетическими показателями ($38,12 \pm 1,68\%$), а максимальный процент декриоконсервированных спермато-

Таблица 1. Кинетические показатели нативной спермы и заморожено/оттаянного семени петухов разных пород.

Table 1. Kinetic parameters of native sperm and frozen/thawed semen of roosters of different breeds.

№	Название породы	Нативная сперма				Заморожено/оттаянная сперма			
		Общая подвижность, %	мин	макс	CV	Общая подвижность, %	мин	макс	CV
1	Чешская золотистая	$80,42 \pm 1,10^A$	78,75	82,50	2,37	$39,58 \pm 5,42$	28,75	45,00	23,70
2	Китайская шелковая	$80,27 \pm 3,09$	68,33	85,00	8,60	$27,53 \pm 5,85^G$	17,50	48,00	47,52
3	Брама палевая	$83,93 \pm 2,09$	60,00	90,00	9,33	$36,07 \pm 2,56$	20,00	52,50	26,60
4	Итальянская куропатчатая	$86,43 \pm 2,69$	82,00	91,30	5,40	$52,50 \pm 8,37$	38,00	67,00	27,62
5	Орловская ситцевая	$85,00 \pm 0$	85,00	85,00	0,00	$28,00 \pm 8$	20,00	36,00	40,40
6	Фавероль	$83,47 \pm 1,70$	78,33	90,00	4,99	$37,50 \pm 4,47$	25,00	55,00	29,21
7	Бентамка ситцевая	$82,50 \pm 2,50$	80,00	87,50	5,25	$40,00 \pm 6,29$	27,50	47,50	27,24
8	Кохихин карликовый	$78,75 \pm 1,25^B$	77,50	80,00	2,24	$40,83 \pm 0,83^H$	40,00	41,66	2,87
9	Брама светлая	$83,83 \pm 0,73$	81,66	85,00	1,94	$38,67 \pm 3,75$	27,50	50,00	21,69
10	Кохинхин голубой	$76,25 \pm 3,75^C$	72,50	80,00	6,96	$35,00 \pm 15$	20,00	50,00	60,61
11	Кампин	$84,52 \pm 0,95$	78,33	87,50	3,56	$34,89 \pm 1,21^I$	30,00	42,50	10,95
12	Полтавская глинистая	$83,33 \pm 1,67$	80,00	85,00	0,46	$30,00 \pm 2,89$	25,00	35,00	16,37
13	Султанка	$83,60 \pm 1,09$	75,00	86,00	4,11	$28,95 \pm 3,29$	10,00	43,33	35,89
14	Ушанка украинская	$83,51 \pm 1,44$	75,00	86,25	4,57	$36,13 \pm 3,44$	20,00	47,50	25,22
15	Московская бойцовая	$86,38 \pm 1,71^D$	78,75	89,17	4,86	$37,19 \pm 5,64$	18,33	50,00	37,11
16	Первомайская	$84,68 \pm 1,20$	80,00	87,14	3,48	$26,77 \pm 4,87$	10,00	42,14	44,58
17	Панциревская	$85,79 \pm 0,68^E$	83,33	88,33	2,09	$37,93 \pm 2,15$	30,00	45,83	15,03
18	Черный австролорп	$85,00 \pm 0$	85,00	85,00	0,00	$35,38 \pm 2,43$	27,50	40,91	15,33
19	Черно-пестрый австролорп	$79,38 \pm 2,59$	68,75	87,50	9,22	$27,50 \pm 4,80^J$	5,00	43,75	49,38
20	Царскосельская	$86,47 \pm 0,72^F$	67,50	90,00	4,57	$36,33 \pm 1,73^K$	5,00	53,33	26,12
	Значения для всей выборки	$83,86 \pm 0,42$	60,00	91,30	6,10	$34,92 \pm 0,86$	5,00	67,00	29,70

Данные представлены в виде $M \pm SEM$, CV – коэффициент вариации (%), A: F – ($p < 0,001$), B:F, C:F, C:E, C:D, G:H, H:K, H:I, H:J – ($p < 0,05$)

зоидов с высокими показателями общей подвижности ($37,05 \pm 1,03\%$) был получен в случае замора-

живания образцов нативной спермы с общей подвижностью выше 85%.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования, НИ-ОКТР № 124020200127-7.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Arif A., Zahoor N., Tang J., Tang M., Dong L., Khan S.Z., Dai G. Cryopreservation strategies for poultry semen: a comprehensive review of techniques and applications. *Veterinary sciences*. 2025;12:145. doi:10.3390/vetsci12020145
2. Benesova B., Trefil P. Possibilities for preserving genetic resources in birds. *World's poultry science journal*. 2016; 72(3): 629-642. doi.org/10.1017/S0043933916000489
3. Wolkers W. F., Woelders H. O. Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. *Methods in molecular biology*. 2015. doi:10.1007/978-1-0716-0783-1_16
4. Ciftci H.B., Aygün A. Poultry semen cryopreservation technologies. *World's poultry science Journal*. 2018;74(4):699-710. doi:10.1017/S0043933918000673
5. Tselutin K., Seigneurin F., Blesbois E. Comparison of cryoprotectants and methods of cryopreservation of fowl spermatozoa *Poultry science*. 1999; 78: 586-590. doi:10.1093/ps/78.4.586
6. Sun Y., Li Y., Zong Y., Mehaisen G. M. K., Chen J. Poultry genetic heritage cryopreservation and reconstruction: advancement and future challenges. *Journal of animal science and biotechnology*. 2022; 13(115). doi:10.1186/s40104-022-00768-2
7. Janosikova M., Petricakova M., Ptacek M., Savvulidi F. G., Rychtarova J., Fulka J., New approaches for long-term conservation of rooster spermatozoa. *Poultry science*. 2023; 102(2). doi: 10.1016/j.psj.2022.102386
8. Zhang L., Sun Y., Jiang C., Sohail T., Sun X., Wang J., Li Y. Damage to mitochondria during the cryopreservation, causing ROS leakage, leading to oxidative stress and decreased quality of Ram sperm. *Reproduction in domestic animals*. 2024; 59(10). doi: 10.1111/rda.14737
9. Zong Y., Li Y., Sun Y., Han X., Yuan J., Ma L., Ma H., Chen J. Mitochondrial aspartate aminotransferase (GOT2) protein as a potential cryodamage biomarker in rooster spermatozoa cryopreservation. *Poultry science*. 2025; 104(2). doi:10.1016/j.psj.2024.104690.
10. Xue F., Liu Y., Lv Z., Zhang J., Xiong S., Zha L., Liu Z., Shu J. Regulatory effects of differential dietary energy levels on spermatogenesis and sperm motility of yellowfeathered breeder cocks. *Frontiers in veterinary science*. 2022; 29(9). doi: 10.3389/fvets.2022.964620
11. Ayeneshet B., Taye M., Esatu W., Tsefa A. Comparative analysis of semen quality and fertility in diverse rooster breeds: a systematic review. *World's Poultry Science Journal*. 2024;80(3):947-975. doi:10.1080/00439339.2024.2338347
12. Madeddu M., Zaniboni L., Marelli S.P., Tognoli C., Belcredito S., Iaffaldano N., Di Iorio M., Cerolini S. Selection of male donors in local chicken breeds to implement the Italian semen cryobank: variability in semen quality, freezability and fertility. *Veterinary science*. 2024; 11(4):148. doi:10.3390/vetsci11040148
13. Mohan J., Sharma S. K., Kolluri G. Dharma K. History of artificial insemination in poultry, its components and significance. *World's poultry science journal*. 2018; 74(3): 475-488. doi:10.1017/S0043933918000430
14. Duračka M., Benko F., Tvrdá E. Molecular markers: a new paradigm in the prediction of sperm freezability. *International journal of molecular sciences*. 2023; 24(4): 3379. doi:10.3390/ijms24043379
15. Ezzati M., Shanehbandi D., Hamdi K., Rahbar S., Pashaiasl M. Influence of cryopreservation on structure and function of mammalian spermatozoa: an overview. *Cell Tissue Banking*. 2020;21(1):1-15. doi:10.1007/s10561-019-09797-0
16. Li Y, Sun Y, Ni A, Tesfay HH, Isa AM, Zong Y, Ma H, Yuan J, Chen J. Factor analysis of semen quality in chicken and its impact on fertility. *Animals*. 2025;15(13):1906. doi: 10.3390/ani15131906.
17. Shawky M, Fawy A.F., Elomda A.M., Elmenawey M.A., Atta A.M., Abbas A.O., Mehaisen G.M.K. Effect of semen dilution rate and dimethyl acetamide levels on post-thaw motility and fertility parameters of rooster sperm. *PLoS One*. 2025; 20(10). doi:10.1371/journal.pone.0335748
18. Alvarez M., Tamayo-Canul J., Anel E., Boixo J. C., Mata-Campuzano M., Martinez-Pastor F., Anel L., Paz P. Sperm concentration at freezing affects post-thaw quality and fertility of ram semen. *Theriogenology*. 2012; 77(6):1111-1118. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.10.013
19. Nascimento J., Raphael C. F., Andrade A. F.C., Alonso M. A., Celeghini E. C.C., Arruda R. P. Effects of Sperm Concentration and Straw Volume on Motion Characteristics and Plasma, Acrosomal, and Mitochondrial Membranes of Equine Cryopreserved Spermatozoa. *Journal of equine veterinary science*. 2008;28(6):351-358. doi:10.1016/j.jevs.2008.04.010
20. Díaz Ruiz E., Delgado Bermejo J. V., Navas González F. J., León Jurado J. M., González Ariza A. Packaging with lower sperm concentrations improves post-thawing quality parameters of rooster semen. *Italian journal of animal science*. 2025; 24(1):89-100. doi:10.1080/1828051X.2024.2442042
21. Chaithongsri M., Pachamon K., Koedkanmark T., Boonkum W., Duangjinda M., Chankitisakul V. Research note: Effect of sample type, sperm concentration, and storage conditions on malondialdehyde levels in rooster semen. *Poultry science*. 2026;105(5). doi:10.1016/j.psj.2025.106054.
22. Patricio A., Cruz D.F., Silva J.V., Padrão A., Correia B. R., Korrodi-Gregório L., Ferreira R., Maia N., Almeida S., Lourenc, J., Silva V., Fardilha M. Relation between seminal quality and oxidative balance in sperm cell. *Acta Urológica Portuguesa*. 2016; 33(1):6-15. doi:10.1016/j.acup.2015.10.001

REFERENCES

1. Arif A., Zahoor N, Tang J., Tang M., Dong L., Khan S.Z., Dai G. Cryopreservation strategies for poultry semen: a comprehensive review of techniques and applications. *Veterinary sciences*. 2025;12:145. doi:10.3390/vetsci12020145.
2. Benesova B., Trefil P. Possibilities for preserving genetic resources in birds. *World's poultry science journal*. 2016; 72(3): 629-642. doi.org/10.1017/S0043933916000489
3. Wolkers W. F., Woelders H. O. Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. *Methods in molecular biology*. 2015. doi:10.1007/978-1-0716-0783-1_16
4. Çiftçi H.B., Aygün A. Poultry semen cryopreservation technologies. *World's poultry science Journal*. 2018;74(4):699-710. doi:10.1017/S0043933918000673
5. Tselutin K., Seigneurin F., Blesbois E. Comparison of cryoprotectants and methods of cryopreservation of fowl spermatozoa *Poultry science*. 1999; 78: 586-590. doi:10.1093/ps/78.4.586
6. Sun Y., Li Y., Zong Y., Mehaisen G. M. K., Chen J. Poultry genetic heritage cryopreservation and reconstruction: advancement and future challenges. *Journal of animal science and biotechnology*.2022; 13(115). doi:10.1186/s40104-022-00768-2
7. Janosikova M., Petricakova M., Ptacek M., Savvulidi F. G., Rychtarova J., Fulka J., New approaches for long-term conservation of rooster spermatozoa. *Poultry science*. 2023; 102(2). doi: 10.1016/j.psj.2022.102386
8. Zhang L., Sun Y., Jiang C., Sohail T., Sun X., Wang J., Li Y. Damage to mitochondria during the cryopreservation, causing ROS leakage, leading to oxidative stress and decreased quality of Ram sperm. *Reproduction in domestic animals*. 2024; 59(10). doi: 10.1111/rda.14737
9. Zong Y., Li Y., Sun Y., Han X., Yuan J., Ma L., Ma H., Chen J. Mitochondrial aspartate aminotransferase (GOT2) protein as a potential cryodamage biomarker in rooster spermatozoa cryopreservation. *Poultry science*. 2025; 104(2). doi:10.1016/j.psj.2024.104690.
10. Xue F., Liu Y., Lv Z., Zhang J., Xiong S., Zha L., Liu Z., Shu J. Regulatory effects of differential dietary energy levels on spermatogenesis and sperm motility of yellowfeathered breeder cocks. *Frontiers in veterinary science*. 2022; 29(9). doi: 10.3389/fvets.2022.964620
11. Ayeneshet B., Taye M., Esatu W., Tsefa A. Comparative analysis of semen quality and fertility in diverse rooster breeds: a systematic review. *World's Poultry Science Journal*. 2024;80(3):947–975. doi:10.1080/00439339.2024.2338347
12. Madeddu M., Zaniboni L., Marelli S.P., Tognoli C., Belcredito S., Iaffaldano N., Di Iorio M., Cerolini S. Selection of male donors in local chicken breeds to implement the Italian semen cryobank: variability in semen quality, freezability and fertility. *Veterinary science*. 2024; 11(4):148. doi:10.3390/vetsci11040148
13. Mohan J., Sharma S. K., Kolluri G. Dhama K. History of artificial insemination in poultry, its components and significance. *World's poultry science journal*. 2018; 74(3): 475-488. doi:10.1017/S0043933918000430
14. Duračka M., Benko F., Tvrdá E. Molecular markers: a new paradigm in the prediction of sperm freezability. *International journal of molecular sciences*. 2023; 24(4): 3379. doi:10.3390/ijms24043379
15. Ezzati M., Shانهbandi D., Hamdi K., Rahbar S., Pashaiasl M. Influence of cryopreservation on structure and function of mammalian spermatozoa: an overview. *Cell Tissue Banking*. 2020;21(1):1–15. doi:10.1007/s10561-019-09797-0
16. Li Y, Sun Y, Ni A, Tesfay HH, Isa AM, Zong Y, Ma H, Yuan J, Chen J. Factor analysis of semen quality in chicken and its impact on fertility. *Animals*. 2025;15(13):1906. doi: 10.3390/ani15131906.
17. Shawky M, Fawy A.F., Elomda A.M., Elmenawey M.A., Atta A.M., Abbas A.O., Mehaisen G.M.K. Effect of semen dilution rate and dimethyl acetamide levels on post-thaw motility and fertility parameters of rooster sperm. *PLoS One*. 2025; 20(10). doi:10.1371/journal.pone.0335748
18. Alvarez M., Tamayo-Canul J., Anel E., Boixo J. C., Mata-Campuzano M., Martinez-Pastor F., Anel L., Paz P. Sperm concentration at freezing affects post-thaw quality and fertility of ram semen. *Theriogenology*. 2012; 77(6):1111-1118. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.10.013
19. Nascimento J., Raphael C. F., Andrade A. F.C., Alonso M. A., Celeghini E. C.C., Arruda R. P. Effects of Sperm Concentration and Straw Volume on Motion Characteristics and Plasma, Acrosomal, and Mitochondrial Membranes of Equine Cryopreserved Spermatozoa. *Journal of equine veterinary science*. 2008;28(6):351-358. doi:10.1016/j.jevs.2008.04.010
20. Díaz Ruiz E., Delgado Bermejo J. V., Navas González F. J., León Jurado J. M., González Ariza A. Packaging with lower sperm concentrations improves post-thawing quality parameters of rooster semen. *Italian journal of animal science*. 2025; 24(1):89–100. doi:10.1080/1828051X.2024.2442042
21. Chaithongsri M., Pachamon K., Koedkanmark T., Boonkum W., Duangjinda M., Chankitisakul V. Research note: Effect of sample type, sperm concentration, and storage conditions on malondialdehyde levels in rooster semen. *Poultry science*. 2026;105(5). doi:10.1016/j.psj.2025.106054.
22. Patricio A., Cruz D.F., Silva J.V., Padrão A., Correia B. R., Korrodi-Gregório L., Ferreira R., Maia N., Almeida S., Lourenc, J., Silva V., Fardilha M. Relation between seminal quality and oxidative balance in sperm cell. *Acta Urológica Portuguesa*. 2016; 33(1):6-15. doi:10.1016/j.acup.2015.10.001

Поступила в редакцию / Received: 19.03.2026

Поступила после рецензирования / Revised: 24.04.2026

Принята к публикации / Accepted: 30.06.2026