

••• КРІОБІОЛОГІЯ ••• CRYOBIOLOGY •••

УДК: 595.771

Ефективність кріоконсервування сперми свійської птиці за харківською технологією

О.В.Ткачов, О.Л.Ткачова, Л.В.Газзаві-Рогозіна

У статті представлені результати порівняння ефективності кріоконсервування сперми свійської птиці за харківською та німецькою технологіями і фізіологічні особливості сперми самців птахів різних видів. Еякуляти від піддослідних птахів отримували 3 рази на тиждень шляхом спинно-черевного масажу. У свіжоотриманій спермі визначали рухливість сперміїв і кількість патологічних форм статевих клітин у відсотках, в системі Sperm Vision («Minitube», Німеччина). Після заморожування-відтавання визначали рухливість сперміїв у відсотках. Цілісність плазматичних мембран сперматозоїдів птахів до і після кріоконсервування визначали на цитометрі DAKO Galaxy. Частини еякулятів, які були розведені контрольним розчинником, заморожували в пайєтах об'ємом 0,25 мл в автоматичному заморожувачі Biofreeze BV-65 («Consarctic Entwicklung Und Handels GmbH», Німеччина). Частини еякулятів, які були розведені розчинником, який розробляється нами, заморожували у формі облицьованих гранул об'ємом 0,25 мл в розробленому нами заморожувачі для сперми ссавців харківської технології. Ефективність харківської технології кріоконсервування сперми, яка була модифікована нами для сперми птахів, забезпечувала отримання кращих фізіологічних характеристик розділених еякулятів свійської птиці після відтавання, ніж німецька технологія. Рухливість сперміїв півнів після деконсервації була на 4,24% більше, ніж при застосуванні німецької технології, при збільшенні збереження мембран на 8,6%. Кріорезистентність сперми перепелів також була вище за умов застосування харківської технології на 3,24% за рухливістю і на 3,26% за мембрано-стабілізуючими властивостями. Ефективність кріоконсервування сперми цесарів за харківською технологією в облицьованих гранулах була вище німецького аналога за рухливістю сперміїв на 4,44%, за цілісністю плазматичних мембран статевих клітин на 8,87%. Фізіологічні характеристики відтакої сперми індиків, яка була заготовлена за харківською технологією, перевершували німецький аналог на 7,04% за рухливістю і на 2,65% щодо збереження мембран сперматозоїдів.

Ключові слова: кріоконсервування, сперма, фізіологія, свійська птиця, харківська технологія.

Efficiency of house poultry sperm cryopreservation by the Kharkiv technology

A.V.Tkachev, O.L.Tkacheva, L.V.Gazzavi-Rogozina

The article presents the results of comparing the effectiveness of cryopreservation of poultry sperm according to the Kharkiv and German technology and the physiological characteristics of sperm of male birds of different species. Ejaculates from experimental birds were obtained 3 times a week by dorso-abdominal massage. In freshly ejaculates, motility of sperm cells and the number of pathological forms of germ cells in percent were determined in the Sperm Vision system (Minitube, Germany). After freezing and thawing, the sperm motility was determined in percent. The integrity of the plasma membranes of bird sperm before and after cryopreservation was determined on a DAKO Galaxy cytometer. Parts of the ejaculates that were diluted with the control diluent were frozen in 0.25 ml paillettes in an automatic freezer Biofreeze BV-65 (Consarctic Entwicklung Und Handels GmbH, Germany). Parts of ejaculates that were diluted with the diluent being developed were frozen in the form of coated pellets of 0.25 ml in the freezer developed for mammalian sperm of the Kharkiv technology. The effectiveness of the Kharkiv technology of cryopreservation of sperm, which was modified by us for bird sperm, provided the best physiological characteristics of the ejaculates of poultry after thawing than the German technology. The mobility of rooster sperm after deconservation was 4.24% more than when applying the German technology with an increase in membrane preservation by 8.6%. The cryoresistance of quail sperm was also higher when applying the Kharkiv technology by 3.24% in mobility and by 3.26% in membrane-stabilizing properties. The efficiency of cryopreservation of the sperm of the czars according to the Kharkiv technology in lined granules was higher than when applying the German technology in mobility of sperm cells by 4.44%, in the integrity of plasma membranes of germ cells by 8.87%. The physiological characteristics of thawed turkey sperm, which was harvested according to the Kharkiv technology, surpassed the German equivalent by 7.04% in mobility and 2.65% in preservation of sperm membrane.

Key words: cryopreservation, sperm, physiology, poultry, Kharkiv technology.

Эффективность криоконсервирования спермы домашней птицы по харьковской технологии

А.В.Ткачев, О.Л.Ткачева, Л.В.Газзави-Рогозина

В статье представлены результаты сравнения эффективности криоконсервирования спермы домашней птицы по харьковской и немецкой технологии и физиологические особенности спермы самцов птиц разных видов. Эякуляты от подопытных птиц получали 3 раза в неделю путем спинно-брюшного массажа. В свежеполученных эякулятах определяли подвижность спермиев и количество патологических форм половых клеток в процентах, в системе Sperm Vision («Minitube», Германия). После замораживания-оттаивания определяли подвижность спермиев в процентах. Целостность плазматических мембран сперматозоидов птиц до и после криоконсервирования определяли на цитометре DAKO Galaxy. Части эякулятов, которые были разбавлены контрольным разбавителем, замораживали в пайетах по 0,25 мл в автоматическом замораживателе Biofreeze BV-65 («Consarctic Entwicklung Und Handels GmbH», Германия). Части эякулятов, которые были разбавлены разрабатываемым разбавителем, замораживали в форме облицованных гранул по 0,25 мл в разработанном нами замораживателе для спермы млекопитающих харьковской технологии. Эффективность харьковской технологии криоконсервирования спермы, которая была модифицирована нами для спермы птиц, обеспечивала получение лучших физиологических характеристик разделенных эякулятов домашней птицы после оттаивания, чем немецкая технология. Подвижность спермиев петухов после деконсервации была на 4,24% больше, чем при использовании немецкой технологии, при увеличении сохранности мембран на 8,6%. Криорезистентность спермы перепелов также была выше при применении харьковской технологии на 3,24% по подвижности и на 3,26% по мембраностабилизирующим свойствам. Эффективность криоконсервирования спермы цесарей по харьковской технологии в облицованных гранулах была выше немецкого аналога по подвижности спермиев на 4,44%, по целостности плазматических мембран половых клеток на 8,87%. Физиологические характеристики оттаянной спермы индюков, которая была заготовлена по харьковской технологии, превосходили немецкий аналог на 7,04% по подвижности и на 2,65% по сохранности мембран сперматозоидов.

Ключевые слова: криоконсервирование, сперма, физиология, домашняя птица, харьковская технология.

Вступ

М'ясо свійської птиці є основним джерелом дієтичного білку для людини. Тому в світі спостерігається інтенсивний розвиток галузі птахівництва. За останні чотири роки в світі кількість поголів'я свійської птиці збільшилася приблизно на 11%, що обумовлено фізіологічною скоростиглістю і відносно низькими витратами кормів порівняно з іншими видами тварин, яких вирощують для отримання м'яса (Mottet, Tempio, 2017).

Стимулюючим фактором розвитку галузі птахівництва є недостатньо широке практичне застосування криоконсервування сперми і штучного осіменіння птахів, що частково викликано низькою ефективністю існуючих способів заморожування еякулятів (Dimitrov et al., 2007; Donoghue, Douard et al., 2003). В процесі заморожування-відтавання еякулятів птахів спостерігається різке зниження фізіологічних характеристик сперміїв, що пояснюється високим рівнем пошкодження плазматичних мембран статевих клітин птахів (Ushiyama et al., 2019; Fattah et al., 2017; Froman, 2003). В першу чергу це вказує на недосконалість існуючих технологічних підходів і застосовуваних розчинників для еякулятів птахів (Iaffaldano, Meluzzi, 2003; Kotlowska et al., 2007; Kucera, Heidinger, 2018). Частково зниження ефективності криозбереження сперми птахів пов'язане з істотними відмінностями морфології сперматозоїдів порівняно зі ссавцями: довжина джгутика у 7–8 разів більша довжини головки спермія; головка спермія має витягнуту, подовжену форму (проти овальної, грушоподібної у ссавців) (Lukasewicz et al., 2004; Long, 2006; Blanco et al., 2007; Blesbois, Brillard, 2007). Крім того, доведено істотні відмінності криорезистентності сперми птахів залежно від їх виду і напряму продуктивності, незважаючи на схожість в будові сперматозоїдів (Mosca et al., 2016). Існують дослідження, які доводять, що криорезистентність сперми півнів залежить від їх лінійної належності (Tarif et al., 2013; Partyka et al., 2013). Сперма мускусного селезня має більш високу криорезистентність, ніж у селезня пекінської качки (Kasai et al., 2000). Найбільш низька фізіологічна здатність витримувати криоконсервування серед самців птахів описана у самців цесарів (Seigneurin et al., 2013).

В останні роки встановлено певні успіхи у криоконсервуванні сперми птахів дослідниками НДІ проблем кріобіології та кріомедицини, незважаючи на те, що досі не вдається зберегти більше 50% повноцінних статевих клітин після заморожування-розморожування. Ведеться пошук альтернативних кріопротекторів з меншою цитотоксичною дією, адже гліцерин суттєво знижує запліднюючу здатність сперміїв птиці навіть за 2% концентрації (Дюбко и др., 2007; Линник, Мартынюк, 2010; Ліннік, 2003).

Для вирішення проблеми підвищення ефективності криоконсервування сперми птахів ми вирішили модифікувати розроблену нами харківську технологію криоконсервування сперми ссавців (Ткачєв и др., 2018а, 2018b; Tkachev et al., 2017), яка раніше не застосовувалася для заморожування-відтавання еякулятів птахів, у той час як більше 80% ринку криоконсервування сперми птахів у Росії займають західноєвропейські технології фірм «Minitube» (Німеччина) та IMV (Франція). Принципові відмінності технології фірми «Minitube» (Німеччина) полягають у тому, що сперма фасується у пайети, а заморожування виконується у програмному заморожувачі у парах рідкого азоту (мінус 130°C) з наступним зануренням у рідкий азот (мінус 196°C). Модифікована харківська технологія передбачає іншу форму спермодози (облицьована гранула або шприц-туба), використання розроблюваного розчинника, використання розроблюваного не програмного заморожувача із пасивним охолодженням металевого термоблоку, у якому знаходяться спермодози до мінус 80°C з наступним зануренням у рідкий азот (мінус 196°C).

Метою дослідження було вивчення порівняльної ефективності криоконсервування сперми птахів за технологією фірми «Minitube» (Німеччина) та за модифікованою харківською технологією для сперми птахів.

Методика

Еякуляти отримували від статевозрілих птахів (7 голів), перепелів (7 голів), цесарів (7 голів), індиків (7 голів) і гусей (7 голів), яких утримували в індивідуальних клітках фізіологічного двору УНІЦ «Агротехнопарк» Білгородського державного аграрного університету імені В.Я.Горіна. Структура і поживність раціону птахів відповідали чинним нормативам годівлі для кожного виду.

Еякуляти від піддослідних птахів отримували 3 рази в тиждень шляхом спинно-черевного масажу (Seigneurin et al., 2013). У свіжоотриманих еякулятах визначали рухливість сперміїв і кількість патологічних форм статевих клітин у відсотках, в системі Sperm Vision («Minitube», Німеччина). Після заморожування-відтавання визначали рухливість сперміїв у відсотках. Цілісність плазматичних мембран сперматозоїдів птахів до і після криоконсервування визначали на цитометрі DAKO Galaxy.

Для розведення і криоконсервування сперми птахів застосовували 2 розчинника, дослідний (який розробляється нами) і контрольний. Контрольний розбавник був наступного складу: вода бідистильована – 100 мл; фруктоза – 1,0 г; глюкоза – 1,0 г; Трис-НСІ – 0,195 г; натрій фосфорнокислий двозаміщений – 1,1 г; глутамат натрію – 3,0 г; кріопротектор диметилацетамід до 8%. Склад розроблюваного нами розчинника не розкривається, вміст кріопротектору диметилацетаміду в ньому також був до 8%. Кожен еякулят ділили на 2 рівні частини і заморожували в контрольному і дослідному розчиннику за технологією фірми «Minitube» (Німеччина) та модифікованою харківською технологіями відповідно (Ткачєв и др., 2018а, 2018b; Tkachev et al., 2017). Розведення еякулятів птахів виконували розчинниками у співвідношенні 1 : 1. Потім свіжорозведені еякуляти розміщували на охолодження у холодильнику за температури 2–5°C впродовж 180 хвилин (контрольний розчинник) і 90 хвилин (розроблюваний нами розчинник).

Частини еякулятів, які були розведені контрольним розчинником, заморожували за технологією «Minitube» (Німеччина) в пайетах об'ємом 0,25 мл в автоматичному заморожувачі Biofreeze BV-65 («Consarctic Entwicklung Und Handels GmbH», Німеччина) у парах рідкого азоту (мінус 130°C) впродовж 10–15 хвилин з наступним зануренням у рідкий азот (мінус 196°C). Частини еякулятів, які були розведені розроблюваним нами розчинником, заморожували за харківською технологією в формі облицьованих гранул об'ємом 0,25 мл в розробленому нами заморожувачі для сперми ссавців харківської технології у металевих контейнерах до температури мінус 80°C впродовж 30 хвилин з наступним зануренням у рідкий азот (мінус 196°C) (Ткачєв и др., 2018а, 2018b; Tkachev et al., 2017).

Статистичний аналіз даних проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики, статистичну значущість відмінностей оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента. У таблицях

наведені середні (М) і стандартні похибки середнього (\pm SEM). Дисперсійний аналіз виконували з використанням спеціалізованого пакету прикладних програм SPSS for Windows («IBM», США).

Результати та обговорення

Фізіологічні характеристики еякулятів домашньої птиці представлені в табл. 1. З даних таблиці видно, що в нативних еякулятах найбільшу кількість спермій з прямолінійно-поступовим рухом спостерігали у перепелів, що на 1,4% більше від рухливості сперматозоїдів півнів, на 4,96% більше ($p<0,05$), ніж у цесарів, на 11,42% більше ($p<0,01$), ніж у індиків, і на 22,89% більше ($p<0,001$), ніж у гусей.

Таблиця 1.

Фізіологічні характеристики нативної сперми свійської птиці (М \pm SEM, n=181)

Вид птахів (кількість голів)	Кількість еякулятів	Рухливість спермій, %	Живих спермій з непошкодженими мембранами, %	Патологічні форми спермій, %
Півні (7)	35	85,24 \pm 1,48	81,64 \pm 1,48	9,03 \pm 0,36
Перепела (7)	34	86,64 \pm 1,65	83,96 \pm 1,43	9,48 \pm 0,47
Цесарі (7)	37	81,68 \pm 1,48*	79,56 \pm 1,33	13,16 \pm 0,55***
Індики (7)	36	75,22 \pm 2,59**	71,06 \pm 2,18***	11,72 \pm 0,49***
Гусаки (7)	39	63,75 \pm 2,01***	60,75 \pm 1,61***	15,06 \pm 0,49***

Примітка. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ порівняно з півнями.

Для отримання високих показників запліднюючої здатності еякулятів дуже важливо, щоб відсоток спермій з непошкодженими мембранами був якомога більше. При дослідженні видових відмінностей спермій з непошкодженими мембранами було встановлено, що найбільший їх відсоток був у обстежених самців перепелів, що на 2,32% більше за аналогічний показник півнів, на 4,4% більше, ніж у цесарів, на 12,9% більше ($p<0,001$), ніж у індиків і на 23,21% більше ($p<0,001$), ніж у гусей.

Аналіз кількості живих спермій з непошкодженими мембранами по відношенню до загальної кількості спермій з прямолінійно-поступовим рухом показав, що в еякуляті півнів статевих клітин з непошкодженими мембранами було менше на 3,6%, у перепелів – на 2,68%, у цесарів – на 2,12%, у індиків – на 4,16%, у гусей – на 3%.

Кількість патологічних форм спермій була найменшою у півнів, що на 0,45% краще, ніж у перепелів, на 4,13% менше ($p<0,001$), ніж у цесарів, на 2,69% менше ($p<0,001$), ніж у індиків, і на 6,03% менше ($p<0,001$), ніж у гусей. Таким чином, найменша фізіологічна кількість спермій з патологічною морфологією спостерігається у півнів і перепелів – менше 10%. Найбільша фізіологічна кількість спермій з патологіями в будові спостерігається у гусей – близько 15%.

Головною метою досліджень кріорезистентності сперми домашньої птиці полягала у проведенні порівняльної оцінки існуючих кріотехнологій і розріджувачів та розробленої нами харківської технології для ссавців, яку ми модифікували для заморожування-відтавання еякулятів птахів. Результати порівняння ефективності криоконсервування сперми домашньої птиці представлені в табл. 2.

Видові особливості кріорезистентності сперми домашньої птиці полягають в тому, що найбільшу кількість спермій з прямолінійно-поступовим рухом після заморожування-відтавання спостерігали у перепелів, що на 2,7% більше ($p<0,05$) рухливості спермій півнів, на 6,02% більше ($p<0,001$) рухливості спермій цесарів і на 8,05% більше ($p<0,001$) – індиків, на 14,09% ($p<0,05$) більше активності спермій гусей після відтавання.

Застосування технології фірми «Minitube» (Німеччина) та контрольного розчинника для заморожування сперми домашньої птиці у вигляді пайет об'ємом 0,25 мл забезпечує отримання низької кількості живих спермій з непошкодженими мембранами. В еякуляті півнів після відтавання було отримано лише 20,88% живих спермій з непошкодженими мембранами, що на 1,1% менше від спермодоз перепелів, на 1,58% більше від еякулятів цесарів, на 3,43% більше від індиків та на 5,65% більше ($p<0,001$), ніж в спермодозах гусей.

Таблиця 2.
Кріорезистентність сперми свійської птиці після заморожування-відтавання за різними технологіями (M±SEM, n=181)

Вид птиці (кількість голів)	Кількість еякулятів	Технологія фірми «Minitube», Німеччина (контрольний розчинник, пайети по 0,25 мл)		Модифікована харківська технологія (дослідний розчинник, облицьовані гранули по 0,25 мл)	
		Рухливість спермійів, %	Живих спермійів з неушкодженими мембранами, %	Рухливість спермійів, %	Живих спермійів з неушкодженими мембранами, %
Півні (7)	35	44,48 ± 0,59	20,88 ± 0,55	48,72 ± 1,15**	29,48 ± 1,73***
Перепела (7)	34	47,18 ± 1,01	21,98 ± 0,70	50,42 ± 1,37	25,24 ± 0,70**
Цесарі (7)	37	41,16 ± 0,74	19,30 ± 0,65	45,60 ± 0,90***	28,18 ± 2,10***
Індики (7)	36	39,13 ± 1,36	17,45 ± 0,74	46,17 ± 1,04***	20,10 ± 1,06*
Гусаки (7)	39	33,09 ± 1,01	15,23 ± 0,20	42,22 ± 1,26***	17,88 ± 0,87*

Примітка. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ порівняно до німецької технології.

Ефективність модифікованої харківської технології для сперми птахів забезпечувала отримання кращих фізіологічних характеристик розділених еякулятів домашньої птиці після відтавання, ніж технологія фірми «Minitube» (Німеччина). Рухливість спермійів півнів після деконсервації була на 4,24% більше ($p < 0,01$), ніж при застосуванні технології фірми «Minitube» при збільшенні збереження мембран на 8,6% ($p < 0,001$), що узгоджується з результатами кріоконсервування сперми птахів, які описані закордонними авторами (Ushiyama et al., 2019; Blanco et al., 2007; Blesbois, Brillard, 2007).

Кріорезистентність сперми перепелів також була вище за умов застосування модифікованої харківської технології на 3,24% за рухливістю і на 3,26% ($p < 0,01$) за мембрано-стабілізуючими властивостями, що також краще даних закордонних дослідників (Korn et al., 2000; Woelders et al., 2006).

Ефективність кріоконсервування сперми цесарів за модифікованою харківською технологією в облицьованих гранулах була вище, ніж при застосуванні технології фірми «Minitube», за рухливістю спермійів на 4,44% ($p < 0,001$), за цілісністю плазматичних мембран статевих клітин на 8,87% ($p < 0,001$). Фізіологічні характеристики відталої сперми індиків, яка була заготовлена за модифікованою харківською технологією, перевершували показники, отримані при застосуванні технології фірми «Minitube», на 7,04% ($p < 0,001$) за рухливістю і на 2,65% щодо збереження мембран сперматозоїдів.

Застосування модифікованої харківської технології для сперми птахів забезпечує отримання кращих фізіологічних характеристик еякулятів, ніж технологія фірми «Minitube». Доведена можливість кріоконсервування сперми свійської птиці в облицьованих гранулах харківської технології. Мембраностабілізуючі властивості розроблюваного нами розчинника для сперми птахів перевершують контрольний розчинник на 2,6–9 %.

Таким чином, наші дослідження довели, що отримати збереженість спермійів свійської птиці після заморожування-розморожування більше 50% цілком можливо, на відміну від закордонних дослідників, які вважають, що це дуже складно зробити (Mong Diep Nguyen et al., 2014; Blanco et al., 2007). Порівняння результатів кріоконсервування сперми за модифікованою харківською технологією із результатами кріоконсервування сперми різних видів птахів, отриманими закордонними авторами (Mosca et al., 2016; Partyka et al., 2013; Ushiyama et al., 2019), свідчить про те, модифікована харківська технологія не тільки не поступається закордонним аналогам, а навіть перевершує їх на 2–9 %.

Список літератури / References

Дюбко Т.С., Егоров М.И., Линник Т.П. Флуоресцентные зонды для исследования сперматозоидов в криозащитных средах // Цитология. – 2007. – Т.49, №6. – С. 521–526. /Dyubko T.S., Egorov M.I., Linnik T.P. Fluorescent probes to study spermatozoa in cryoprotective media // Tsitologiya. – 2007. – Vol.49, no. 6. – P. 521–526./

- Линник Т.П., Мартынюк И.Н. Подходы к созданию криозащитных сред при кріоконсервировании спермы птиц // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2010. – Т.20, №2. – С. 109–122. /Linnik T.P., Martynuk I.N. Approaches to creation of cryoprotective media for cryopreservation of avian sperm // Problems of Cryobiology and Cryomedicine. – 2010. – Vol.20, no. 2. – P. 109–122./
- Ліннік Т.П. Фізико-хімічні фактори кріопшкоджень і кріозахисту сперматозоїдів півнів у циклі низькотемпературного консервування. Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. – Харків, 2003. – 36с. /Linnik T.P. Physical and chemical factors of cryodamages and cryoprotection of fowl spermatozoa in low temperature preservation cycle. Author's abstract of thesis for Doctor of Biol. Sciences. – Kharkiv, 2003. – 36p./
- Ткачѳв А.В., Ткачѳва О.Л., Россоха В.И. Ассоциированность эритроцитарных антигенов с характеристиками спермы жеребцов после кріоконсервирования // Сельскохозяйственная биология. – 2018а. – Т.53 (4). – С. 735–742. /Tkachev A.V., Tkacheva O.L., Rossokha V.I. Associated connection of erythrocytary antigens with characteristics of stallion semen after cryoconservation // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. – 2018а. – Vol.53 (4). – P. 735–742./
- Ткачѳв А.В., Ткачѳва О.Л., Россоха В.И. Цитогенетический статус кобыл украинской верховой породы в связи с оплодотворяемостью // Сельскохозяйственная биология. – 2018b. – Т.53 (2). – С. 302–308. /Tkachev A.V., Tkacheva O.L., Rossokha V.I. Cytogenetic status of mares (*Equus caballus*) of Ukrainian riding breed influences their fertility // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. – 2018b. – Vol.53 (2). – P. 302–308./
- Blanco J.M., Hofle U., Moorhouse R. et al. Improved avian sperm cryopreservation through comparative studies // Cryobiology. – 2007. – Vol.55 (3). – P. 354–355.
- Blesbois E., Brillard J.P. Specific features of in vivo and in vitro sperm storage in birds // Animal. – 2007. – Vol.1. – P. 1472–1481.
- Dimitrov S.G., Atanasov V.K., Surai P.F., Denev S.A. Effect of organic selenium on turkey semen quality during liquid storage // Animal Reproduction Science. – 2007. – Vol.100. – P. 311–317.
- Donoghue A.M., Wishart G.J. Storage of poultry semen // Animal Reproduction Science. – 2000. – Vol.62. – P. 213–232.
- Douard V., Hermier D., Magistrini M., Blesbois E. Reproductive period affects lipid composition and quality of fresh and stored spermatozoa in turkeys // Theriogenology. – 2003. – Vol.59. – P. 753–764.
- Fattah A., Sharafi M., Masoudi R. et al. L-Carnitine in rooster semen cryopreservation: flow cytometric, biochemical and motion findings for frozen-thawed sperm // Cryobiology. – 2017. – Vol.74. – P. 148–153.
- Froman D. Deduction of a model for sperm storage in the oviduct of the domestic fowl (*Gallus domesticus*) // Biology of Reproduction. – 2003. – Vol.69. – P. 248–253.
- Iaffaldano N., Meluzzi A. Effects of dialysis on quality characteristics of turkey semen during liquid storage // Theriogenology. – 2003. – Vol.60. – P. 421–427.
- Kasai K., Izumo A., Inaba T., Sawada T. Assessment of fresh and stored duck spermatozoa quality via in vitro sperm-egg interaction assay // Theriogenology. – 2000. – Jul. 15. – Vol. 54(2). – P. 283–290.
- Korn N., Thurston R.J., Pooser B.P., Scott T.R. Ultrastructure of Spermatozoa from Japanese Quail // Poultry Science. – 2000. – Vol.79 – P. 407–414.
- Kotlowska M., Dietrich G., Wojtczak M. et al. Effects of liquid storage on amidase activity, DNA fragmentation and motility of turkey spermatozoa // Theriogenology. – 2007. – Vol.67. – P. 276–286.
- Kucera A.C., Heidinger B.J. Avian semen collection by cloacal massage and isolation of DNA from sperm // J. Vis. Exp. – 2018. – Issue 132. – e55324.
- Long J.A. Avian semen cryopreservation: what are the biological challenges? // Poult. Sci. – 2006. – Vol.85 (2). – P. 232–236.
- Lukasewicz E., Chrzanowska M., Jerysz A., Chelmonska B. Attempts on freezing the Greylag (*Anser anser* L.) gander semen // Anim. Reprod. Sci. – 2004. – Vol.80 (1–2). – P. 163–173.
- Mong Diep Nguyen T., Alves S., Grasseau I. et al. Central role of 5'-AMP-activated protein kinase in chicken sperm functions // Biology of Reproduction. – 2014. – Vol.91 (5). – P. 1–15.
- Mosca F., Madeddu M., Sayed A. et al. Combined effect of permeant and non-permeant cryoprotectants on the quality of frozen/thawed chicken sperm // Cryobiology. – 2016. – Vol.73 (3). – P. 343–347.
- Mottet A., Tempio G. Global poultry production: current state and future outlook and challenges // World's Poultry Science Journal. – 2017. – Vol.73 (2). – P. 242–256.
- Partyka A., Niżański W., Bajzert J. et al. The effect of cysteine and superoxide dismutase on the quality of post-thawed chicken sperm // Cryobiology. – 2013. – Vol.67 (2). – P. 132–136.
- Seigneurin F., Grasseau I., Chapuis H., Blesbois E. An efficient method of guinea fowl sperm cryopreservation // J. Poultry Sci. – 2013. – Vol.92, no. 11. – P. 2988–2996.
- Tarif A.M.M., Bhuiyan M.M.U., Ferdousy R.N. et al. Evaluation of semen quality among four chicken lines // Journal of Agriculture and Veterinary Science. – 2013. – Vol.6 (1). – P. 7–13.

Tkachev A.V., Sheremeta V.I., Tkacheva O.L., Rossokha V.I. Physiological relationship of erythrocyte antigens with indicators of horse spermogram // *Fiziol. Zh.* – 2017. – Vol.63 (1). – P. 84–90.

Ushiyama A., Priyadarshana C., Setiawan R. et al. Membrane raft-mediated regulation of glucose signaling pathway leading to acrosome reaction in chicken sperm // *Biology of Reproduction.* – 2019. – Vol.1 (4). – P. 15–20.

Woelders H., Zuilberg C.A., Hiemstra S.J. Animal genetic resources conservation in the Netherlands and Europe: poultry perspective // *Poultry Science.* – 2006. – Vol.85. – P. 216–222.

Представлено: М.В.Чорний / Presented by: M.V.Chorny

Рецензент: О.Ю.Петренко / Reviewer: A.Yu.Petrenko

Подано до редакції / Received: 09.04.2019

About the authors: A.V.Tkachev – Belgorod State Agricultural University, Vavilov Str., 1, Maysky Village, Belgorod, Russia, 308503, sasha_sashaola2017@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-7721-5742>
O.L.Tkacheva – Belgorod State Agricultural University, Vavilova Str., 1, Maysky Village, Belgorod, Russia, 308503, sasha_sashaola2017@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-5573-6117>
L.V.Gazzavi-Rogozina – Kharkiv State University of Food Technology and Trade, Klochkovskaya Str., 333, Kharkiv, Ukraine, 61051, gazzavi@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8050-414X>

Про авторів: О.В.Ткачов – Белгородський державний аграрний університет, вул. Вавілова, 1, сел. Майський, Белгород, Росія, 308503, sasha_sashaola2017@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-7721-5742>

О.Л.Ткачова – Белгородський державний аграрний університет, вул. Вавілова, 1, сел. Майський, Белгород, Росія, 308503, sasha_sashaola2017@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-5573-6117>

Л.В.Газзаві-Рогозіна – Харківський державний університет харчування і торгівлі, вул. Клочківська, 333, Харків, Україна, 61051, gazzavi@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8050-414X>

Об авторах: А.В.Ткачев – Белгородский государственный аграрный университет, ул. Вавилова, 1, п. Майский, Белгород, Россия, 308503, sasha_sashaola2017@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-7721-5742>

О.Л.Ткачева – Белгородский государственный аграрный университет, ул. Вавилова, 1, п. Майский, Белгород, Россия, 308503, sasha_sashaola2017@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-5573-6117>

Л.В.Газзави-Рогозина – Харьковский государственный университет питания и торговли, ул. Клочковская, 333, Харьков, Украина, 61051, gazzavi@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8050-414X>