

М. А. Максимова, Е. А. Корочкина

Криорезистентность спермы разных видов животных (обзор)

Аннотация.

Целью данной работы явилось систематизирование и анализ научных данных о криорезистентности спермы различных видов животных и факторов, влияющих на криорезистентность спермы. Криорезистентность спермы – это устойчивость сперматозоидов к воздействию низких температур. Криорезистентность оценивают по морфологической характеристике сперматозоидов, их активности и подвижности после оттаивания, целостности акросомы, плазматической мембраны и степени повреждения хроматина. Криоконсервация является важной составляющей искусственного осеменения животных, а знания о криорезистентности сперматозоидов являются теоретической базой для успешной криоконсервации спермы. Исходя из перечисленных исследований, криорезистентность имеет видовые особенности и зависит от: возраста животных, породных особенностей, сезона года, концентрации тестостерона и пролактина в крови, индекса температуры и влажности, а также от протоколов криоконсервации.

Ключевые слова: сперма; криорезистентность; сельскохозяйственные животные; видовые особенности.

Авторы:

Максимова М. А. – e-mail: mariaandreevna72@gmail.com;

Корочкина Е. А. – кандидат ветеринарных наук; e-mail: e.kora@mail.ru.

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины; 196084, Россия, Санкт-Петербург Черниговская ул., 5.

Криоконсервация спермы – это самый перспективный способ хранения спермы вне организма, подразумевающий охлаждение и последующее замораживание спермы до температур, при которых останавливаются биологические процессы [1, 2]. Криоконсервация спермы имеет большое значение в животноводстве по нескольким причинам: во-первых, снижаются затраты на содержание поголовья производителей и появляется возможность осеменять самок независимо от присутствия самца в хозяйстве, во-вторых, криоконсервация подразумевает длительное хранение сперматозоидов, а это позволяет перевозить сперму на большие расстояния, в-третьих, имеется возможность накапливать запасы замороженной спермы от высокоценных производителей и в дальнейшем использовать для улучшения различных характеристик у потомков [3-5].

Многочисленными исследованиями установлено, что успешность процесса глубокой заморозки спермы во многом зависит от криорезистентности сперматозоидов. Как известно, криорезистентность спермы – это устойчивость сперматозоидов к воздействию низких температур.

Полагают, что успех криоконсервации зависит от целостности мембран сперматозоидов и их функционирования после размораживания [6], а качество сперматозоидов в криоконсервированной сперме зависит от их способности выдерживать перепады температур без потери своих функций.

При проведении криоконсервации внутри клетки образуются кристаллы льда, и возникает гиперосмотическая внеклеточная среда, на что клетки реагируют потерей воды, что приводит к снижению метаболизма клеток и их гибели [7].

Криорезистентность сперматозоидов зависит от множества факторов, одним из которых является вид животного. Так, у крупного рогатого скота в результате криоконсервации спермы происходит снижение подвижности и жизнеспособности сперматозоидов на 50 %, у хряков снижение подвижности сперматозоидов аналогично сперме быков, при этом жизнеспособность снижается на 60 % [5]. Однако колебания показателей криоустойчивости сперматозоидов не ограничиваются видом животных.

Другими факторами, влияющими на криорезистентность сперматозоидов, являются: состав разбавителя, порода животного и степень инбридинга, сезон года для некоторых животных, размер головки сперматозоида, скорость заморозки, концентрация тестостерона и многое другое [8-13].

Так Jimenez-Rabadan P., Soleret al. A. J. (2016) определяли зависимость криорезистентности сперматозоидов и метода сбора спермы у мелких жвачных животных (метод искусственной вагины и электроэякуляцию). Было выявлено, что сперма, полученная с помощью искусственной вагины, имеет более высокую криорезистентность по

сравнению со спермой, полученной при использовании метода электроэякуляции. В связи с этим, исследователи полагают, что электроэякуляция вызывает изменения в составе эякулята, что делает сперматозоиды более восприимчивыми к процессу криоконсервации [14].

Исследование Alberto Contri, Alessia Gloria et al. (2012), суть которого заключалась в оценке влияния концентрации сперматозоидов на качество размороженной спермы у ослов показало, что при увеличении концентрации качество размороженной спермы снижалось и увеличивался процент статичных сперматозоидов [15].

Несомненно, состав разбавителя играет важную роль в криорезистентности, поэтому при добавлении тех или иных веществ можно наблюдать различную криоустойчивость. Так, добавление в сперму циклодекстрина, содержащего холестерин, способствует улучшению жизнеспособности сперматозоидов, их подвижности и целостности акросомы после размораживания [6], а добавление различных сахаров, таких как сахароза и трегалоза, улучшает жизнеспособность и подвижность сперматозоидов после ее размораживания [16].

Факторами, не влияющими на криорезистентность, являются упаковка спермы перед проведением ее замораживания. Так, по данным Айбазова М. М. и Мамонтовой Т. В. (2020) образцы, замороженные в гранулах и в пайетах, обладают примерно одинаковым уровнем криорезистентности [17].

Из этого следует, что существуют условия, влияющие на показатели криорезистентности. Однако на сегодняшний день нет четкого описания показателей криорезистентности, ее оценивают по различным характеристикам в зависимости от исследования. Основными из них являются морфологическая характеристика сперматозоидов, их активность и жизнеспособность после оттаивания, целостность акросомы, плазматической мембраны и степень повреждения хроматина.

На сегодняшний день накоплено довольно большое количество исследований, посвященных особенностям криорезистентности сперматозоидов различных видов животных. Так, у жеребцов сперматогенез происходит в течение всего года. Однако согласно проведенным исследованиям Ткачева А. В. и др. (2022), криорезистентность сперматозоидов зависит от сезона. При этом подвижность половых клеток наиболее высокая с сентября по декабрь, после размораживания она составляет 3,9-4 баллов.

Наименьшая подвижность наблюдается в апреле (1,8 баллов). Согласно проведенной оценке качества спермы после оттаивания наибольшая переживаемость сперматозоидов также была отмечена в период с сентября по декабрь и составляла 4,2-4,5 часа. Наименьшая переживаемость отмечена в апреле (1,9 ч). Таким образом, в данном исследовании наибольшая криорезистентность сперматозоидов жеребцов наблюдалась в период полового покоя [18]. Исследователями Francisca Ebel et al. (2020) были получены такие же результаты [19].

Стоит отметить и морфологическую характеристику сперматозоидов после оттаивания по сравнению с нативной спермой. Так, результаты исследований Незаленова А. А., Синякина А. И. и др. (2021) указывают на то, что в оттаянной сперме количество патологических форм сперматозоидов выше на 5,9 % по сравнению с нативной, причем наиболее часто встречающейся патологией являются аморфные головки у сперматозоидов (на 14,3 % в сравнении с нативной спермой) [2].

Если говорить о различных показателях криорезистентности внутри вида, то можно выделить межпородные и возрастные особенности [20]. Снижение качества криоконсервированной спермы наблюдали у жеребцов старше 9 лет, при этом существенных изменений между более молодыми возрастными группами не отмечали. Качество криоконсервированной спермы также меняется в зависимости от породы: более высокие показатели наблюдали у арабской породы лошадей по сравнению с исландской, теплокровными породами и квотерхорс.

Что касается криорезистентности спермы быков, она также зависит от породных особенностей животного, возраста быка, индекса температуры, влажности и других параметров. Как было отмечено ранее, подвижность и жизнеспособность сперматозоидов быка в оттаянной сперме в среднем снижается на 50 % по сравнению с нативной спермой [5]. А среди различных пород холодового стрессу более подвержена сперма от пород бельгийская голубая и светлая аквитанская по сравнению со спермой голштинской, бурай швейцарской, лимузенской пород [21].

Не только порода, но и возраст могут оказывать влияние на качество криоконсервированной спермы быков. Так, Llamas-Luceno N et al. (2020) в своих исследованиях отмечают, что по мере увеличения возраста быка происходит снижение криорезистентности сперматозоидов [22]. Однако по данным Hallap T. et al. (2005), суще-

ственных отличий качественных показателей замороженной-оттаянной спермы быков красной шведской породы возраста 1 года и 4-х лет не обнаружено [23].

Стоит также отметить корреляционную зависимость длительности хранения замороженной спермы и показателей криоустойчивости. Так, Плешаков В. А. (2006) в своей диссертации сравнил сперму быков с различным сроком хранения и показал, что активность оттаянных сперматозоидов колебалась в пределах от 3,5 до 4 баллов, в зависимости от срока хранения замороженной спермы, при этом наивысшую активность имели сперматозоиды со сроком хранения 8 лет, а наименьшую — со сроком хранения 18 и 16 лет. Выживаемость сперматозоидов при температуре 5 °С колебалась в интервале от 84 до 96 часов, причем наибольшее значение данного показателя наблюдалось в сперме со сроком хранения 18 лет. Автор полагает, что сперматозоиды со сроком хранения 18 лет имели больший размер сперматозоидов, в связи с чем и больший запас питательных веществ и меньшую активность, что способствовало наивысшей выживаемости [24].

Существует подобное исследование спермы быков породы Пинцгау, в котором также проводилась оценка сперматозоидов с различным сроком хранения. Установлено, что подвижность сперматозоидов во всех группах составила более 40 % (4 балла). При этом Chrenek P. et al. (2017) не доказали существенного влияния продолжительности хранения на подвижность, количество патологических форм и мертвых сперматозоидов. Однако была определена вариабельность показателей между отдельными самцами [25].

Следует упомянуть, что на криорезистентность сперматозоидов быков оказывает влияние индекс температуры и влажности. Так, при увеличении индекса происходит снижение показателей криорезистентности (Llamas-Lucero N et al., 2020) [22].

Что касается криорезистентности мелких жвачных животных, то данный показатель зависит от полового сезона. Так, жизнеспособность сперматозоидов после оттаивания выше в сперме, полученной в конце периода гона [10].

Багиров В. А. и др. (2017) провели исследование о влиянии породности баранов на криорезистентность. Согласно результатам проведенных исследований, у гибридов баранов романовской породы и чистопородных баранов подвижность сперматозоидов после криоконсервации составила 43 % (4,3 балла). Количество неподвижных сперматозоидов у гибридов составило 48,6 %, а у

чистопородных — 51,2 %. Оценивались также такие показатели как криорезистентность, осмотическая резистентность и дегидрогеназная активность (в минутах), причем показатели были выше у гибридов: по показателю криорезистентности на 9 %, по осмотической резистентности на 20 %, по дегидрогеназной активности на 44,5 % [9]. Исходя из исследования, можно сделать вывод о том, что генетическое смешение чистопородных и диких животных положительно сказывается на криорезистентности сперматозоидов.

Несмотря на то, что мелкий рогатый скот относится к полициклическим животным, сперматогенез и секреторная активность придаточных половых желез происходит в течение года. Однако у баранов и козлов процесс образования половых клеток регулируется сезонными изменениями секреции тестостерона. В свою очередь, колебания тестостерона предположительно влияют на криорезистентность спермы. Так, подкожное введение тестостерона баранам и козлам в конце сезона половой активности улучшило кинетические показатели замороженных-оттаянных сперматозоидов и повысило криорезистентность [13].

Авторы Flores-Gil V. N. et al. (2021) и Boveda Gomez P. et al. (2023) отмечают, что на криорезистентность влияет не только концентрация тестостерона, но и пролактина. При этом высокая концентрация пролактина в крови у барана и козла негативно влияет на криорезистентность спермы [26, 27].

Богданюк А. О., Гарькавий В. В. и другие (2022) провели исследование сезонной изменчивости криорезистентности спермы козлов, а именно оценку показателей криорезистентности в сезон размножения коз (с сентября по декабрь) и в остальное время года. Согласно результатам проведенных исследований количество подвижных сперматозоидов в оттаянной сперме, полученной в период размножения, выше в 1,5 раза, чем в сперме, полученной в остальное время года. Показатели жизнеспособности сперматозоидов в оттаянной сперме, полученной в период половой активности, были выше по сравнению с оттаянной спермой, полученной в период полового покоя [28]. По данным Van Tilburg et al. (2014), сезонная изменчивость криорезистентности спермы зависит от липидного состава мембран сперматозоидов, уровня синтеза белка аквапорина, белков-ферментов, защищающих от окислительного стресса, и белков теплового шока [29].

Проводя анализ литературных данных о криоконсервации спермы петухов нужно отметить, что процесс замораживания значительно

ухудшает состояние плазматических мембран сперматозоидов петухов, причем у некоторых сперматозоидов нарушается структура акросомы, что в конечном итоге отрицательно отражается на оплодотворяющей способности сперматозоидов [30]. Многочисленные исследования указывают на межпородные различия криорезистентности у петухов. Плешанов Н. В. и Станишевская О. И. (2015 г.) выявили межпородные различия активности сперматозоидов после деконсервации. При этом наиболее высокие показатели активности были выявлены у петухов породы Пушкинская и Брама (5 и 3,5 балла), самые низкие показатели у пород Китайская шелковая и Кохинхин голубой (1,7 и 1,2 балла) [31]. По результатам исследований Козиковой Л. В. и др. (2022) активность замороженно-оттаянной спермы петухов пород брама светлая и брама палевая составляет в среднем 3 и 4 балла, соответственно [32].

Согласно исследованию Силуковой Ю. Л. (2019), на криорезистентность также влияет и

степень инбридинга в популяции. При высокой степени инбридинга показатели активности сперматозоидов деконсервированной спермы снижаются [33].

Что касается изменений показателей криорезистентности при добавлении различных разбавителей, то при добавлении валина в сперму при последующем замораживании-оттаивании и оценке показателей было обнаружено увеличение подвижности, целостности ДНК и повышение коэффициента фертильности [34].

Подводя итоги, криоконсервация является важной составляющей искусственного осеменения животных, а знания о криорезистентности сперматозоидов являются теоретической базой для успешной криоконсервации спермы. Исходя из вышеперечисленных исследований, криорезистентность имеет видовые особенности и зависит от: возраста животных, породных особенностей, сезона года, концентрации тестостерона и пролактина в крови, индекса температуры и влажности, а также от протоколов криоконсервации.

Литература

1. Дюльгер Г.П. Акушерство, гинекология и биотехника размножения кошек: учебное пособие для вузов / Г.П. Дюльгер, Е.С. Седлецкая, П.Г. Дюльгер — 3-е изд. перераб. и доп. — Санкт-Петербург: Лань, 2022. — 196 с.
2. Влияние криоконсервации спермы жеребцов на морфологические характеристики сперматозоидов / А. А. Незаленова, А. И. Синякина, О. В. Широкова [и др.] // Научное обеспечение развития и повышения эффективности коневодства России и стран СНГ: Сборник докладов международной научно-практической конференции, Дивово, 19 мая 2021 года. — Дивово: Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства Российской, 2021. — С. 138-148.
3. Alevra A. I. The protective role of melatonin in sperm cryopreservation of farm animals and human: lessons for male fish cryopreservation / A. I. Alevra, A. Exadactylos, E. Mente, S. Papadopoulos // Animals. — 2022. — № 12(6). DOI: 10.3390/ani12060791.
4. Аксенова П. В., Ермаков А. М. Биология репродукции коз: Монография. — СПб. : Издательство «Лань», 2022. — 272 с.
5. Yanez-Ortiz I. Advances in sperm cryopreservation in farm animals: Cattle, horse, pig and sheep / I. Yanez-Ortiz, J. Catalan, J. E. Rodriguez-Gilet et al. // Animal Reproduction Science. — 2022.
6. Salmon V. M. Cholesterol-loaded cyclodextrin increases the cholesterol content of goat sperm to improve cold and osmotic resistance and maintain sperm function after cryopreservation / V. M. Salmon, P. Leclerc, J. L. Bailey // Biology of Reproduction. — 2016. — № 94(4). — P. 1-12.
7. John Morris G. Freezing injury: the special case of the sperm cell / G. John Morris, E. Acton, B. J. Murray et al. // Cryobiology. — 2012. — № 64(2). — P. 72-80. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2011.12.002.
8. Ahmad K. Motility and fertility of frozen bull spermatozoa in tris-yolk and milk extenders containing amikacin sulfate / K. Ahmad, R. H. Foote // Journal of Dairy Science. — 1985. — № 8. — P. 2083-2086.
9. Багиров В. А. Влияние криоконсервации на биологические параметры семени у гибридов романовской породы и архара / А. В. Багиров, Б. С. Иолчиев, Н. А. Волкова и др. // Сельскохозяйственная биология. — 2017 — № 52(2). — С. 268-273.
10. Martinez-Fresneda L. Seasonal variation in sperm freezability associated with changes in testicular germinal epithelium in domestic (*Ovisaries*) and wild (*Ovismusimon*) sheep / L. Martinez-Fresneda, E. O. Brien, R. Velazquez et al. // Reproduction, Fertility and Development. — 2019. — № 31(10). — P. 1545-1557. DOI: 10.1071/RD18511.

11. Ramon M. Sperm cell population dynamics in ram semen during the cryopreservation process / M. Ramyn, M. D. Perez-Guzman, P. Jimenez-Rabadan et al. // *Plos One*. — 2013. — №8(3). DOI: 10.1371/journal.pone.0059189.
12. Martinez-Fresneda L. Epididymal and ejaculated sperm differ on their response to the cryopreservation and capacitation processes in mouflon (*Ovis montanus*) / L. Martinez-Fresneda, C. Castano, P. Boveda et al. // *Scientific Reports*. — 2019. — № 9(1). DOI: 10.1038/s41598-019-52057-0.
13. Flores-Gil V. N. Influence of testosterone administration at the end of the breeding season on sperm cryoresistance in rams (*Ovis aries*) and bucks (*Capra hircus*) / V. N. Flores, M. G. Millam de la Blanca, R. Velazquez et al. // *Domestic Animal Endocrinology*. — 2020. — № 72.
14. Jimenez-Rabadan P. Influence of semen collection method on sperm cryoresistance in small ruminants / P. Jimenez-Rabadan, A. J. Soler, M. Ramon, O. Garcia-Alvarez et al. // *Animal Reproduction Science*. — 2016. — P. 103-108.
15. Contri A. Effect of sperm concentration on characteristics of frozen-thawed semen in donkeys / A. Contri, A. Gloria, D. Robbe, et al. // *Animal Reproduction Science*. — 2012. — P. 74-80.
16. Perez-Marin C. C. ultra-rapid freezing using droplets immersed into liquid nitrogen in bull sperm: evaluation of two cryoprotective disaccharides and two warming temperatures / C. C. Perez-Marin, L. Quevedo, M. Salas // *Biopreservation and Biobanking*. — 2022. DOI: 10.1089/bio.2022.0075.
17. Айбазов М. М. Качественные показатели спермы барана, криоконсервированной при разных технологиях / М. М. Айбазов, Т. В. Мамонтова // *Сельскохозяйственный журнал*. — 2020. — №2(13). — С. 39-45.
18. Ткачев А. В. Криорезистентность спермы жеребцов в разные месяцы года / А. В. Ткачев, Ю. И. Корвин, Ю. И. Ткачева // *Известия ТСХА*. — 2022. — №2. — С. 79-87.
19. Ebel F. Semen quality and freezability analysis during breeding and non-breeding seasons in heavy draft stallions in southern Chile / F. Ebel, A. Vallejos, G. Gajardo // *Andrologia*. — 2020 — № 52(11). DOI: 10.1111/and.13797.
20. Aurich J. Efficiency of semen cryopreservation in stallions / J. Aurich, J. Kuhl, A. Tichy et al. // *Animals*. — 2020. — №10 (6). DOI: 10.3390/ani10061033.
21. Ntemka A. Breed differences of bull frozen-thawed semen / A. Ntemka, G. Tsousis, C. Broses et al. // *Reproduction in Domestic Animals*. — 2016. — № 51(6). — P. 945-952. DOI: 10.1111/rda.12769.
22. Lamas-Luceno N. High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates / N. Lamas-Luceno, M. Hostens, E. Mullaart et al. // *Journal of Dairy Science*. — 2020. — № 103(10) — P. 9502-9514.
23. Hallap T. Sperm chromatin stability in frozen-thawed semen is maintained over age in ai bulls / T. Hallap, S. Nagy, M. Haard // *Theriogenology*. — 2005. — № 63(6). — P. 1752-1763. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.08.001.
24. Плешаков В. А. Влияние сроков хранения криоконсервированной спермы быков-производителей на ее качество: автореферат / В. А. Плешаков // *ФГОУ ВПО «Алтайский государственный аграрный университет»*. — 2006. — 21 с.
25. Chrenek P. Quality of Pinzgau bull spermatozoa following different periods of cryostorage / P. Chrenek, E. Spalekova, L. Olexikova et al. // *Zygote*. — 2017. — № 25(2). — P. 215-221. DOI: 10.1017/S0967199417000077.
26. Flores-Gil V. N. Role of changes in plasma prolactin concentrations on ram and buck sperm cryoresistance / V. N. Flores-Gil, A. Toledano-Diaz, R. Velazquez // *Domestic Animal Endocrinology*. — 2021. — 76.
27. Boveda Gomez P. Influence of prolactin secretion changes on sperm head size and freezability in ibex and mouflon // *Biopreservation and Biobanking*. — 2023. — № 21(2). — P. 142-148.
28. Bogdaniuk A. O. Seasonal variability in cryoresistance of Saanen goats spermatozoa and reproductive characteristics / A. O. Bogdaniuk, V. V. Garkavii, M. P. Petrushko // *Problems of cryobiology and cryomedicine*. — 2022. — № 32(1). — P. 34-41.
29. Tilburg M. F. Semen variables and sperm membrane protein profile of Saanen bucks (*Capra hircus*) in dry and rainy seasons of the northeastern Brazil (3°S) / M. F. van Tilburg, M. G. Flores Salles, M. M. Silva et al. // *International Journal of Biometeorology*. — 2014. — № 59(5). — P. 561-573. DOI: 10.1007/s00484-014-0869-6.

30. Olexikova L. Cryodamage of plasma membrane and acrosome region in chicken sperm / L. Olexikova, M. Miranda, B. Kulikova et al. // *Anatomia Histologia Embryologia*. — 2019. — № 48(1). — P. 33-39. DOI: 10.1111/ahc.12408.
31. Плешанов Н. В. Кривоустойчивость спермы петухов в зависимости от содержания в ней липидов / Н. В. Плешанов, О. И. Станишевская // *Генетика и разведение животных*. — 2015. — №1 — С. 53-57.
32. Козикова Л. В. Оценка качества нативной и криоконсервированной спермы птиц пород брама светлая и брама палевая и их химер / Л. В. Козикова, Е. А. Полтева, А. А. Курочкин и др. // *Международный вестник ветеринарии*. — 2022. — №1. — С. 175-180.
33. Силукова Ю. Л. Влияние степени инбридинга на качество криоконсервированной спермы петухов генофондных пород / Ю. Л. Силукова // *Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения*. — Том Часть I. — Санкт-Петербург — Пушкин: Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, 2019. — С. 264-267.
34. Bernal B. Effect of supplementation of valine to chicken extender on sperm cryoresistance and post-thaw fertilization capacity / B. Bernal, N. Iglesias-Cabeza, U. Sanchez-Rivera / et al. // *Poultry Science*. — 2020. — № 99(12). — P. 7133-7141. DOI: 10.1016/j.psj.2020.09.060.

Maksimova M., Korochkina E.

Sperm cryoresistance of different animal species

Abstract.

The aim of this work was the systematization and analysis of scientific data on cryoresistance of sperm of various types of animals and factors affecting the cryorezistivity of sperm. Sperm cryoresistance is the stability of sperm to the effects of low temperatures. Cryoresistance is evaluated according to the morphological characteristics of sperm, their activity and mobility after thawing, the integrity of the acrosomes, the plasma membrane and the degree of damage to chromatin. Cryoconservative is an important component of artificial insemination of animals, and knowledge about the cryorezistence of spermatozoa is the theoretical basis for the successful cryoponement of sperm. Based on the listed studies, cryoresistance has species features and depends on: the age of animals, pedigree features, season of the year, concentration of testosterone and prolactin in the blood, temperature and humidity index, as well as from cryoconservative protocols.

Key words: sperm; Cryoresistance; agricultural animals; species features.

Authors:

Maksimova M. – e-mail: mariaandreevna72@gmail.com

Korochkina E. – PhD (Vet. Sci.); e-mail: e.kora@mail.ru.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine; 196084, Russia, St. Petersburg, Chernigovskayast., 5.

References

1. Dulger G. P. Obstetrics, gynecology and biotechnology of cat reproduction: a textbook for universities / G. P. Dulger, E. S. Sedletskaya, P. G. Dulger-3rd ed. Refined. and add. — St. Petersburg: Lan, 2022. — 196 p.
2. The impact of cryoconservative sperm of stallions on the morphological characteristics of sperm / A. A. Nennov, A. I. Sinyakin, O. V. Shirokov [et al.] // *Scientific support for the development and increase of the efficiency of the horse breeding of Russia and the CIS countries: a collection of reports of international Scientific and practical conference, Divovo, May 19, 2021*. — Divovo: All-Russian Research Institute of Horse Breeding Russian, 2021. — P. 138-148.

3. Alevra A. I. The protective role of melatonin in sperm cryopreservation of farm animals and human: lessons for male fish cryopreservation / A. I. Alevra, A. Exadactylos, E. Mente, S. Papadopoulos // *Animals*. – 2022. – № 12(6). DOI: 10.3390/ani12060791.
4. Aksenova P.V., Ermakov A. M. Biology of the reproduction of goats: monograph. - St. Petersburg. Publishing house "Lan", 2022. – 272 c.
5. Yanez-Ortiz I. Advances in sperm cryopreservation in farm animals: Cattle, horse, pig and sheep / I. Yanez-Ortiz, J. Catalan, J. E. Rodriguez-Gilet et al. // *Animal Reproduction Science*. – 2022.
6. Salmon V. M. Cholesterol-loaded cyclodextrin increases the cholesterol content of goat sperm to improve cold and osmotic resistance and maintain sperm function after cryopreservation / V. M. Salmon, P. Leclerc, J. L. Bailey // *Biology of Reproduction*. – 2016 – № 94(4) – P. 1-12.
7. John Morris G. Freezing injury: the special case of the sperm cell / G. John Morris, E. Acton, B. J. Murray et al. // *Cryobiology*. – 2012. – № 64(2). – P. 72-80. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2011.12.002.
8. Ahmad K. Motility and fertility of frozen bull spermatozoa in tris-yolk and milk extenders containing amikacin sulfate / K. Ahmad, R. H. Foote // *Journal of Dairy Science*. – 1985. – № 8. – P. 2083-2086.
9. Bagirov V.A. The influence of cryoconservation on the biological parameters of the seed in the hybrids of the Romanov breed and Archara / A. V. Bagirov, B. S. Iolchiev, N. A. Volkova and others. // *Agricultural Biology*. – 2017. – № 52 (2). – P. 268-273.
10. Martinez-Fresneda L. Seasonal variation in sperm freezability associated with changes in testicular germinal epithelium in domestic (*Ovisaries*) and wild (*Ovismusimon*) sheep / L. Martinez-Fresneda, E. O. Brien, R. Velazquez et al. // *Reproduction, Fertility and Development*. – 2019. – № 31(10). – P. 1545-1557. DOI: 10.1071/RD18511.
11. Ramon M. Sperm cell population dynamics in ram semen during the cryopreservation process / M. Ramon, M. D. Perez-Guzman, P. Jimenez-Rabadan et al. // *Plos One*. – 2013. – №8(3). DOI: 10.1371/journal.pone.0059189.
12. Martinez-Fresneda L. Epididymal and ejaculated sperm differ on their response to the cryopreservation and capacitation processes in mouflon (*Ovismusimon*) / L. Martinez-Fresneda, C. Castano, P. Boveda et al. // *Scientific Reports*. – 2019. – № 9(1). DOI: 10.1038/s41598-019-52057-0.
13. Flores-Gil V. N. Influence of testosterone administration at the end of the breeding season on sperm cryoresistance in rams (*Ovisaries*) and bucks (*Capra hircus*) / V. N. Flores, M. G. Millam de la Blanca, R. Velazquez et al. // *Domestic Animal Endocrinology*. – 2020. – № 72.
14. Jimenez-Rabadan P. Influence of semen collection method on sperm cryoresistance in small ruminants / P. Jimenez-Rabadan, A. J. Soler, M. Ramon, O. Garcia-Alvarez et al. // *Animal Reproduction Science*. – 2016. – P. 103-108.
15. Contri A. Effect of sperm concentration on characteristics of frozen-thawed semen in donkeys / A. Contri, A. Gloria, D. Robbe, et al. // *Animal Reproduction Science*. – 2012. – P. 74-80.
16. Perez-Marin C. C. ultra-rapid freezing using droplets immersed into liquid nitrogen in bull sperm: evaluation of two cryoprotective disaccharides and two warming temperatures / C. C. Perez-Marin, L. Quevedo, M. Salas // *Biopreservation and Biobanking*. – 2022. DOI: 10.1089/bio.2022.0075.
17. Aibazov M. M. The qualitative indicators of the sperm of the ram, cryoconced with different technologies / M. M. Aibazov, T.V. Mamontova // *Agricultural Journal*. – 2020. – № 2 (13). – P. 39-45.
18. Tkachev A.V. Cryoresistence of sperm stallions in different months of the year / A. V. Tkachev, Yu. I. Korovin, Yu. I. Tkachev // *News of TSHA*. – 2022. – № 2. – P. 79-87.
19. Ebel F. Semen quality and freezability analysis during breeding and non-breeding seasons in heavy draft stallions in southern Chile / F. Ebel, A. Vallejos, G. Gajardo // *Andrologia*. – 2020. – № 52(11).
20. Aurich J. Efficiency of semen cryopreservation in stallions / J. Aurich, J. Kuhl, A. Tichy et al. // *Animals*. – 2020. – №10 (6). DOI: 10.3390/ani10061033.
21. Ntemka A. Breed differences of bull frozen-thawed semen / A. Ntemka, G. Tsousis, C. Broses et al. // *Reproduction in Domestic Animals*. – 2016. – № 51(6). – P. 945-952. DOI: 10.1111/rda.12769.
22. Lamas-Luceno N. High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates / N. Lamas-Luceno, M. Hostens, E. Mullaart et al. // *Journal of Dairy Science*. – 2020. – № 103(10). – P. 9502-9514.

23. Hallap T. Sperm chromatin stability in frozen-thawed semen is maintained over age in ai bulls / T. Hallap, S. Nagy, M. Haard // *Theriogenology*. – 2005. – № 63(6). – P. 1752-1763. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.08.001.
24. Pleshakov V.A. Influence of storage periods of cryoconservable sperm of bull-free bulls on its quality: abstract / V. A. Pleshakov // FGOU VPO "Altai State Agrarian University". – 2006. – 21 p.
25. Chrenek P. Quality of Pinzgau bull spermatozoa following different periods of cryostorage / P. Chrenek, E. Spalekova, L. Olexikova et al. // *Zygote*. – 2017. – № 25(2). – P. 215-221. DOI: 10.1017/S0967199417000077.
26. Flores-Gil V. N. Role of changes in plasma prolactin concentrations on ram and buck sperm cryoresistance / V. N. Flores-Gil, A. Toledano-Diaz, R. Velazquez // *Domestic Animal Endocrinology*. – 2021. – 76.
27. Boveda Gomez P. Influence of prolactin secretion changes on sperm head size and freezability in ibex and mouflon // *Biopreservation and Biobanking*. – 2023. – № 21(2). – P. 142-148.
28. Bogdaniuk A. O. Seasonal variability in cryoresistance of Saanen goats spermatozoa and reproductive characteristics / A. O. Bogdaniuk, V. V. Garkavii, M. P. Petrushko // *Problems of cryobiology and cryomedicine*. – 2022. – № 32(1). – P. 34-41.
29. Tilburg M. F. Semen variables and sperm membrane protein profile of Saanen bucks (*Capra hircus*) in dry and rainy seasons of the northeastern Brazil (3°S) / M. F. van Tilburg, M. G. Flores Salles, M. M. Silva et al. // *International Journal of Biometeorology*. – 2014. – № 59(5). – P. 561-573. DOI: 10.1007/s00484-014-0869-6.
30. Olexikova L. Cryodamage of plasma membrane and acrosome region in chicken sperm / L. Olexikova, M. Miranda, B. Kulikova et al. // *Anatomia Histologia Embryologia*. – 2019. – № 48(1). – P. 33-39. DOI: 10.1111/ahc.12408.
31. Pleshanov N.V. The cryo resistance of the sperm of roosters depending on the content of lipids / N. V. Pleshanov, O. I. Stanishevskaya // *Genetics and breeding of animals*. – 2015. – № 1. – P. 53-57.
32. Kozikova L.V. Assessment of the quality of the native and cryoconced sperm of birds of the breeds of Brahma Svetly and Brahma Palevaya and their chimera / L. V. Kozikova, E. A. Polteva, A. A. Kurochkin and others // *International Veterinary Medical Academy of Sciences*. – 2022. – № 1. – P. 175-180.
33. Silyukova Yu. L. The influence of the degree of inbreeding on the quality of cryoconced sperm of roosters of gene pools / Yu. L. Silyukova // *Scientific support for the development of agro-industrial complex in the context of import substitution. -Volume of Part I*. – St. Petersburg-Pushkin: St. Petersburg State Agrarian University, 2019. – P. 264-267.
34. Bernal B. Effect of supplementation of valine to chicken extender on sperm cryoresistance and post-thaw fertilization capacity / B. Bernal, N. Iglesias-Cabeza, U. Sanchez-Rivera / et al. // *Poultry Science*. – 2020. – № 99(12). – P. 7133-7141. DOI: 10.1016/j.psj.2020.09.060.