Научная статья

УДК 636.018

Влияние тетраполиэтиленгликолята титана (TTPEG*10PEG) на показатели жизнеспособности спермы петухов при пролонгированном хранении в условиях пониженных температур (5˚С)

Антон Алексеевич Курочкин, Татьяна Ивановна Кузьмина

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных (ВНИИГРЖ) – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста»

Аннотация: *Оценена эффективность использования TTPEG*10PEG (тетраполиэтиленгликолят титана, растворенный в полиэтиленгликоле в соотношении 1:10) в качестве компонента сред для пролонгированного хранения спермы петухов при 5˚С. Состав контрольной двухкомпонентной среды ВНИИГРЖ-2 в опытных группах дополняли TTPEG*10PEG в различных концентрациях (группа Т1 – 0,1%, Т2 – 0,01%, Т3 – 0,001%). Образцы спермы, полученной от петухов царскосельской породы (n=20) в возрасте 36 недель, разбавляли полученными средами и инкубировали в течение 120 ч при 5˚С. Показатели жизнеспособности сперматозоидов (целостность плазматической мембраны, митохондриальный потенциал клеток, содержание ионов кальция) определяли с помощью проточного цитометра ежесуточно, начиная с момента получения эякулятов. Показано, что модификация среды ВНИИГРЖ-2 для разбавления нативной спермы петухов добавлением TTPEG*10PEG в концентрациях 0,1, 0,01 и 0,001% не оказывает цитотоксического воздействия на сперматозоиды при пролонгированной инкубации спермы в условиях низких температур (5˚С), что отражается в высоких показателях жизнеспособности (целостность плазматических мембран) в опытных группах: 55,76±0,56 % (Т2) и 50,86±2,53 % (Т3) против 40,55±1,42% в контроле. Это также подтверждается сохранением высокого уровня митохондриального потенциала в группах Т2 и Т3 (40,13±1,92 и 52,22±0,79% соответственно против 24,36±4,45% в контроле, p<0,05) спустя 120 ч инкубации спермы. Полученные данные позволяют рекомендовать TTPEG*10PEG в качестве компонента сред для разбавления нативной спермы петухов с целью долгосрочного хранения разбавленных эякулятов в условиях пониженных температур (5˚С).*

Ключевые слова: *нативная и охлажденная сперма петухов, пролонгированное хранение, гидрогели, митохондриальная активность.*

Для цитирования: *Курочкин, А.А. Влияние тетраполиэтиленгликолята титана (TTPEG*10PEG) на показатели жизнеспособности спермы петухов при пролонгированном хранении в условиях пониженных температур (5˚С) / А.А. Курочкин, Т.И. Кузьмина // Птицеводство. – 2025. – №9. – С. 13-19.*
doi: 10.33845/0033-3239-2025-74-9-13-19

Введение. Использование нативной спермы петухов для искусственного осеменения (ИО) достаточно распространено в птицеводческой отрасли в сравнении с криоконсервированным семенем, поскольку заморожено/оттаянные мужские гаметы петухов (*Gallus gallus domesticus*) отличаются низкой криоустойчивостью по сравнению со спермой других сельскохозяйственных животных [1]. Применение технологии ИО в птицеводстве способствует быстрому распространению генетического материала от группы превосходных самцов в обширной популяции самок, закрепляя фенотипы, повышающие хозяйственно-полезные признаки птицы. Для долговременного хранения нативной спермы с целью ее дальнейшего использования необходимо разбавление спермы и хранение в условиях пониженных температур, поскольку в ряде исследований показано, что инкубация спермы при температуре, приближенной к температуре тела самки (41˚С), значительно снижает общую подвижность сперматозоидов в короткие сроки, как с использованием сред для разбавления, так и без них [2,3]. Известно, что система *in vivo* (половые пути самки) может сохранять жизнеспособность и фертильность мужских гамет в течение нескольких недель [4].

В связи с вышесказанным, использование пониженных температур (5°С) для пролонгации хранения разбавленных эякулятов является распространенным методом, позволяющим добиться снижения скорости метаболизма мужских гамет, сохраняя, таким образом, показатели жизнеспособности спермы на высоком уровне. Тем не менее, в ряде исследований было показано, что даже короткие периоды хранения семени *in vitro* могут приводить как к метаболическим, так и структурным нарушениям у сперматозоидов [5]: снижение доли клеток с интактной плазматической мембраной, митохондриального потенциала клеток, общей и прогрессивной подвижности.

Поскольку плазматические мембраны сперматозоидов петухов содержат большое количество полиненасыщенных жирных кислот, что делает их более восприимчивыми к оксидативному стрессу в сравнении с другими сельскохозяйственными животными [6], использование экзогенных антиоксидантов является одним из подходов, используемых для повышения показателей жизнеспособности и фертильности нативных эякулятов петухов, сохраняемых в условиях пониженных температур. При пролонгированном хранении спермы могут образовываться активные формы кислорода (АФК), что приводит к разрушению структурных компонентов сперматозоидов, детерминирующих фертильность спермы [7,8]. Эффективность данного подхода показана рядом исследований. Так, добавление в охлаждающую среду различных антиоксидантов, таких как глутатион [9] и коэнзим Q10 [10], повышает долю клеток с интактной плазматической мембраной, высокой митохондриальной активностью и общей подвижностью.

Результаты исследований, направленных на сохранение функциональных и морфологических характеристик образцов спермы петухов, хранящихся при 5°С свыше 24 ч, определили возможность поддержания фертильности спермы путем модернизации состава сред [11]. Однако на данный момент эти характеристики остаются невысокими в сравнении со свежеполученными эякулятами, что говорит о необходимости дальнейших исследований в этой области.

Использование глицерогелей в качестве платформы для отбора мужских гамет с высокими показателями показано рядом исследований последних лет. Биосовместимость гидрогелей и возможность персонализации их физико-химических характеристик, таких как функциональные группы, указывают на них как на привлекательные материалы для разработки платформы для отбора гамет [12]. Так, было обнаружено, что часть популяции подвижных сперматозоидов быка прочно прикрепилась к гидрогелям и была частично высвобождена при обработке гиалуронидазой; общая подвижность данной популяции гамет была достоверно выше, в отличие от той, что не прикрепилась на поверхность гидрогелевой основы [12]. В другом исследовании гидрогелевые поверхности использовались для отбора спермы хряков, а отсоединение адгезивных сперматозоидов осуществляли с помощью среды [13]. Эти результаты показывают, что гидрогели можно использовать с целью отбора спермы с высокой жизнеспособностью и подвижностью для применения в технологиях ИО и экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Одним из веществ данной группы (гидрогелей) является TTPEG*10PEG (тетраполиэтиленгликолят титана, растворенный в полиэтиленгликоле в соотношении 1:10), синтезированный на базе Института органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук (ИОС УрО РАН). Он является прекурсором, который растворим в полиэтиленгликоле (ПЭГ) -400 и воде. При растворении полиэтиленгликолятов титана в большом количестве воды происходит их быстрый обратимый гидролиз с выпадением осадка TiO_2 [14,15].

Цель настоящего исследования – идентифицировать эффекты TTPEG*10PEG на показатели жизнеспособности сперматозоидов петухов (целостность плазматической мембраны, содержание внутриклеточных ионов Ca^{2+}, митохондриальный потенциал клеток) в динамике их пролонгированного хранения в условиях низких температур (5°С)

Материал и методика исследований. В качестве объекта исследования использовали свежеполученные эякуляты петухов породы царскосельская (n=20) в возрасте 36 недель (ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур», ВНИИГРЖ), с общей подвижностью нативных эякулятов ≥80%. Петухи содержались в индивидуальных клетках. Кормление, поение и световой режим экспериментальное поголовье получало в соответствии с возрастными нормами, принятыми в ЦКП. Взятие спермы у петухов в одноразовые стерильные полипропиленовые флаконы проводили дважды в неделю с помощью метода абдоминального массажа.

Таблица 1. Осмолярность и pH контрольной и экспериментальных сред

Показатели	Контроль	T1	T2	T3
pH	6,79	6,76	6,81	6,81
Осмолярность, мОмс/л	391	395	388	390

Таблица 2. Содержание внутриклеточного Ca^{2+} в разбавленных эякулятах петухов, экспонированных в условиях низких температур (5°С) с добавлением в среду TTPEG*10PEG

Продолжительность хранения эякулятов, ч	Доля сперматозоидов с высоким содержанием ионов Ca^{2+}, %			
	Контроль	T1	T2	T3
0	71,55±4,46	75,40±2,82	77,37±6,53	73,94±6,55
24	54,13±1,71	55,50±6,61	59,23±3,1	59,97±1,68
48	38,14±12,21	58,81±2,4	51,53±5,76	53,84±5,24
72	34,39±8,82	37,81±7,55	27,66±5,71	38,57±3,92
96	26,02±6,63	38,17±8,38	21,20±4,17	28,59±6,54
120	41,87±11,88	38,00±5,82	30,34±12,97	42,95±10,36

Общую подвижность оценивали на микроскопе Lacopa NK-310TAF, (Китай), ув. х100.

Среды с добавлением TTPEG*10PEG составляли на основе контрольной среды для разбавления спермы петухов ВНИИГРЖ-2. Для этого к среде добавляли TTPEG*10PEG в концентрациях 0,1% (опытная группа T1), 0,01% (T2) и 0,001% (T3). Осмолярность определяли с помощью осмометра BKD-30SMC (Biobase, Китай), в цифровых показателях она составляла от 388 до 395 мОмс/л, что находится в пределах референсных значений, рекомендованных для разбавителей спермы птиц (250-460 мОмс/л) [16]. Измерение pH проводили с помощью pH-метра pH-150МИ (НПО «Измерительная техника», Россия). Результаты представлены в табл. 1. Известно, что pH нативных эякулятов петухов составляет 7,0 [17]. Учитывая степень разбавления спермы для целей эксперимента (1:1), влияние pH, слегка смещенного в кислую сторону, нивелировалось разбавлением и семенной плазмой.

Оценка таких показателей, как целостность плазматической мембраны, митохондриальный потенциал и содержание внутриклеточного Ca^{2+} в образцах индивидуальных эякулятов петухов осуществлялась с использованием флуоресцентных красителей, с периодичностью каждые 24 ч в течение 120 ч. Флуоресценцию клеток анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter Life Sciences, США). В каждом образце оценивали не менее 10000 событий. Для анализа данных использовали программное обеспечение CytExpert v. 2.4.0.28 (Beckman Coulter, Inc.). Препараты сперматозоидов петухов, окрашенные флуоресцентными красителями, оценивали на микроскопе Axio Imager A1 (Carl Zeiss Microscopy, Германия).

Пробоподготовка для обработки всеми красителями была идентична. Образцы нативной спермы и заморожено/оттаянных эякулятов, разбавленные до концентрации $3x10^6$ клеток/мл, дважды отмывали в PBS (1200 об./мин, 7 мин), ресуспендировали и затем добавляли флуорохромы до конечной концентрации 1 мкМ/мл для Fluo 3 AM, 1 мкМ/мл для пропидия йодида (PI), и 1 мкМ/мл для перхлората этилового эфира тетраметилродамина (TMRE). Последующая инкубация образцов с красителями составила 20 мин. Образцы с красителями TMRE и Fluo 3 AM дополнительно отмывались PBS (1200 об./мин, 7 мин).

Статистический анализ данных включал расчет средних значений и стандартной ошибки средней. Оценку значимости различий между массивами данных проводили при помощи t-критерия Стьюдента. Для определения взаимосвязи между массивами данных рассчитывался ранговый коэффициент Спирмена. Различия считались достоверными при уровне 95% ($p<0,05$). Анализ осуществляли с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2013.

Результаты исследований и их обсуждение. В начальной точке исследования показатели целостности плазматических мембран контрольной и экспериментальных групп находилась в пределах от 81,61±2,3 до 75,42±0,95%, показатели митохондриальной активности клеток и содержания внутриклеточных ионов кальция составили от 71,56±1,56 до 73,14±0,06% и от 71,55±4,46 до 77,37±6,53% соответственно.

Оценка содержания ионов Ca^{2+} в сперматозоидах имеет важное значение, поскольку они детерми-

нируют ряд ключевых функций, таких как подвижность клеток, капацитация и акросомная реакция. Рядом исследований было показано, что повышенные уровни ионов Ca^{2+} в сперме млекопитающих детерминируют оплодотворяющую способность спермы, а также могут вызывать нарушения функционального статуса митохондрий, что приводило к снижению подвижности клеток, активации апоптотических процессов [18] и спонтанной акросомной реакции [19]. В приобретении фертильности спермы внутриклеточные ионы кальция играют ключевую роль при подаче сигналов к изменению энергетического метаболизма. Хотя обнаружено, что снижение концентрации Ca^{2+} улучшает сохранение фертильности спермы у некоторых млекопитающих, связь между фертильностью спермы и содержанием в ней ионов кальция у птиц изучена недостаточно [19]. В нашем исследовании мы наблюдали достоверное снижение доли клеток с высоким содержанием Ca^{2+} в течение всего периода эксперимента внутри каждой исследуемой группы, включая контрольную, что может свидетельствовать о снижении качественных показателей эякулятов и, как следствие, их фертильности по мере пролонгации хранения при 5°С. Однако достоверных отличий между группами в рамках всех исследуемых периодов не было выявлено, что может говорить об отсутствии влияния исследуемого вещества на депонирование ионов кальция в мужских гаметах (табл. 2).

Согласно литературным данным, по мере экспонирования спермы в условиях пониженных температур количество АФК постепенно увеличивается, поскольку клетки подвергаются стрессовому температурному воздействию [20]. Как было сказано ранее, сперматозоиды птиц предрасположены к оксидативному стрессу, что, в свою очередь, может являться одной из основных причин нарушения целостности плазматических мембран. Данный факт подтверждается рядом исследований, в которых было показано, что добавление антиоксидантов в разбавители для хранения спермы петухов в охлажденном виде является перспективным направлением, позволяющим сохранять показатели жизнеспособности мужских гамет на высоком уровне при пролонгированном хранении [7-10].

В нашем исследовании через 24 ч достоверной разницы между контрольной и экспериментальны-

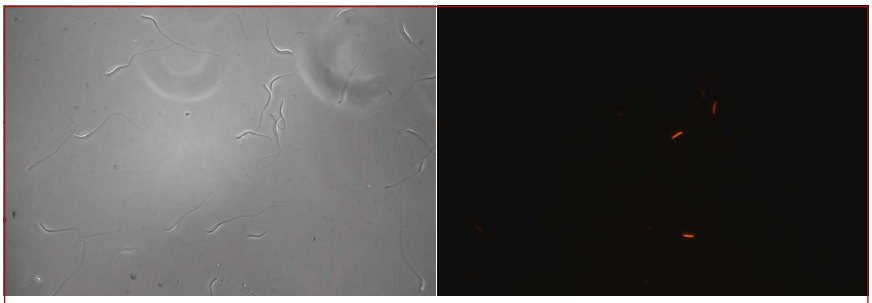

Рис. 1. Целостность плазматических мембран сперматозоидов петухов спустя 24 ч инкубации при 5°С. Репрезентативные изображения сперматозоидов: слева – фазово-контрастная микроскопия, фиксирующая общее количество клеток в поле зрения; справа – флуоресцентная микроскопия (краситель – пропидия йодид), отражающая клетки с поврежденной плазматической мембраной. Ув. x200, Axio Imager A1, Carl Zeiss

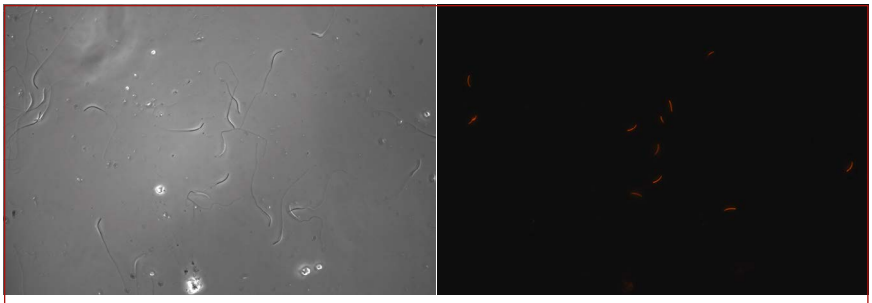

Рис. 2. Целостность плазматических мембран сперматозоидов петухов спустя 72 ч инкубации при 5°С. Репрезентативные изображения сперматозоидов: слева – фазово-контрастная микроскопия, фиксирующая общее количество клеток в поле зрения; справа – флуоресцентная микроскопия (краситель – пропидия йодид), отражающая клетки с поврежденной плазматической мембраной. Ув. x200, Axio Imager A1, Carl Zeiss

Таблица 3. Влияние TTPEG*10PEG на целостность плазматических мембран сперматозоидов петухов в разбавленных эякулятах при пролонгированном хранении в условиях пониженных температур (5°С) с добавлением в среду TTPEG*10PEG

Продолжительность хранения эякулятов, ч	Доля сперматозоидов с интактными плазматическими мембранами, %			
	Контроль	Т1	Т2	Т3
0	78,37±0,71	81,61±2,3	75,42±0,95	79,26±1,47
24	59,19±6,30	64,91±4,25	64,96±1,86	61,87±3,57
48	57,13±5,72	63,62±8,61	61,87±4,29	61,68±3,68
72	43,71±9,07	52,45±4,34	40,64±8,90	43,26±2,38
96	47,35±2,21	43,83±4,69	35,13±2,13	49,76±3,71
120	40,55±1,42[A]	48,44±7,37	55,76±0,56[B]	50,86±2,53[C]

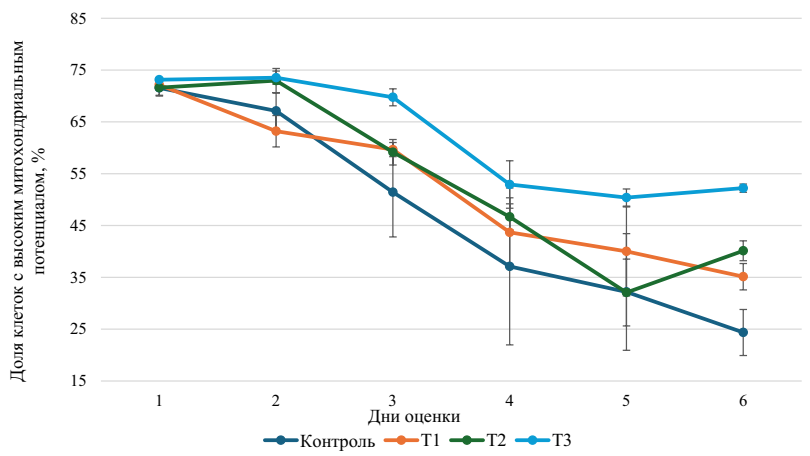

Рис. 3. Митохондриальный потенциал сперматозоидов петухов в динамике пролонгированного хранения при 5°С. Добавление к среде для разбавления спермы петухов (ВНИИГРЖ-2, контроль) TTPEG*10PEG в концентрации 0,1% – группа Т1, 0,01% – Т2, 0,001% – Т3

ми группами по такому показателю жизнеспособности сперматозоидов, как целостность плазматических мембран, не наблюдалось, однако отмечено значительное снижение доли клеток с интактной плазматической мембраной – на 19,18% в контрольной группе против 16,70; 10,46 и 17,39% для групп Т1, Т2, Т3 соответственно, (рис. 1, табл. 3). При исследовании влияния времени инкубации спермы в условиях пониженных температур другими авторами были получены схожие результаты, отражавшиеся в существенном снижении жизнеспособности клеток спустя 24 ч экспозиции [4].

Спустя 72 ч инкубации спермы при 5°С также не было выявлено достоверных различий между группами, но углубились деструктивные изменения в популяциях клеток, что отражалось в снижении доли клеток с интактной плазматической мембраной. Так, в контрольной группе снижение относительно свежеполученной спермы составило 34,66%, для Т1 – 29,16%, Т2 – 34,78%, Т3 – 36,00% (рис. 2, табл. 3).

Спустя 120 ч инкубации образцов спермы петухов доля клеток с интактной плазматической мембраной в контрольной группе составила 40,55%, что достоверно ($p<0,05$) ниже, чем в группе Т2 (55,76%) и Т3 (50,86%). Данный факт свидетельствует об отсутствии цитотоксического действия у TTPEG*10PEG, используемого в предложенных концентрациях в качестве компонента среды для пролонгированного хранения мужских гамет нативной спермы петухов.

Митохондрии сперматозоидов играют жизненно важную роль в регуляции производства АТФ, окислительно-восстановительного равновесия и гомеостаза кальция, что, в свою очередь, детерминирует оплодотворяющую способность спермы. Снижение митохондриального потенциала клеток ведет к снижению важных показателей функционирования сперматозоидов, что, в конечном итоге, приводит к снижению фертильности. Нами было показано, что добавление TTPEG*10PEG к средам для хранения нативной спермы петухов в концентрациях 0,01 и 0,001% приводит к достоверному повышению доли клеток с высоким митохондриальным потенциалом спустя 120 ч инкубации спермы (рис. 3).

Выводы. Добавление в среду для разбавления нативной спермы петухов (ВНИИГРЖ-2) в качестве компонента тетраполиэтиленгликолята титана (TTPEG*10PEG) не оказывает цитотоксического воздействия на сперматозоиды при пролонгированном хранении спермы в условиях пониженных температур (5°С), поскольку в ходе исследования не наблюдали достоверного снижения показателей жизнеспособности (целостность плазматических мембран) в опытных группах в сравнении с контрольной.

Использование TTPEG*10PEG в качестве компонента сред для пролонгированного хранения нативной спермы петухов показало возможность сохранения высокого митохондриального потенциала в мужских гаметах в экспериментальных группах Т2 (0,01% TTPEG*10PEG) и Т3 (0,001% TTPEG*10PEG) в сравнении с контрольной группой (40,13±1,92 и 52,22±0,79% соответственно против 24,36±4,45% в контроле, $p<0,05$), Также обнаружено повышение в этих группах доли клеток с интактной плазматической мембраной (55,76±0,56 и 50,86±2,53% против 40,55±1,42% в контроле, $p<0,05$) спустя 120 ч инкубации спермы при 5°С.

Полученные данные позволяет рекомендовать использование TTPEG*10PEG в концентрациях 0,01 и 0,001% в качестве компонента сред для долговременного хранения нативных эякулятов петухов в условиях пониженных температур (5°С).

Исследования проведены в рамках выполнения государственного задания НИОКТР 124020200127-7.

Литература / References

1. Partyka, A. Advances in storage of poultry semen / A. Partyka, W. Nizanski // Anim. Reprod. Sci. - 2022. - V. 246. - P. 106921. doi: 10.1016/j.anireprosci.2021.106921
2. Clarke, R.N. Morphological changes in chicken and turkey spermatozoa incubated under various conditions / R.N. Clarke, M.R. Bakst, M.A. Ottinger // Poult. Sci. - 1984. - V. 63. - No 4. - P. 801-805. doi: 10.3382/ps.0630801
3. Clarke, R.N. Effect of holding temperature and storage time on respiratory rate, motility, and fertility of chicken and turkey semen / R.N. Clarke, T.J. Sexton, M.A. Ottinger // Poult. Sci. - 1982. - V. 61. - No 9. - P. 1912-1917. doi: 10.3382/ps.0611912
4. Kheawkanha, T. Solid storage supplemented with serine of rooster semen enhances higher sperm quality and fertility potential during storage at 5°C for up to 120 h / T. Kheawkanha, V. Chankitisakul, P. Thananurak, M. Pimprasert, W. Boonkum, T. Vongpralub // Poult. Sci. - 2023. - V. 102. - No 6. - P. 102648. doi: 10.1016/j.psj.2023.102648
5. Khoso, Z.A. A review on poultry semen storage and preservation / Z.A. Khoso, N. Rajput, I.H. Leghari, A. Kaka, T. Khokhar // J. Biores. Manag. - 2024. - V. 11. - No 3. - P. 253-264.
6. Surai, P.F. Polyunsaturated fatty acids, lipid peroxidation and antioxidant protection in avian semen - review / P.F. Surai, N. Fujihara, B.K. Speake, J.-P. Brillard, G.J. Wishart, N.H.C. Sparks //Asian-Australas. J. Anim. Sci. - 2001. - V. 17. - No 7. - P. 1024-1050. doi: 10.5713/ajas.2001.1024
7. Najafi, A. Different concentrations of cysteamine and ergothioneine improve microscopic and oxidative parameters in ram semen frozen with a soybean lecithin extender / A. Najafi, H.D. Kia, H. Mohammadi, M.H. Najafi, Z. Zanganeh, M. Sharafi, F. Martinez-Pastor, H. Adeldust // Cryobiology. - 2014. - V. 69. - No 1. - P. 68-73. doi: 10.1016/j.cryobiol.2014.05.004
8. Najafi, A. Cryopreservation of ram semen in extenders containing soybean lecithin as cryoprotectant and hyaluronic acid as antioxidant / A. Najafi, M.H. Najafi, Z. Zanganeh, M. Sharafi, F. Martinez-Pastor, H. Adeldust // Reprod. Domest. Anim. - 2014. - V. 49. - No 6. - P. 934-940. doi: 10.1111/rda.12405
9. Masoudi, R. Supplementation of chilling storage medium with glutathione protects rooster sperm quality / R. Masoudi, M. Sharafi, L. Pourazadi, N. Dadashpour Davachi, N. Asadzadeh, S. Esmaeilkhanian, E. Dirandeh // Cryobiology. - 2020. - V. 92. - P. 260-262. doi: 10.1016/j.cryobiol.2019.10.005
10. Masoudi, R. Improvement of rooster semen quality using coenzyme Q10 during cooling storage in the Lake extender / R. Masoudi, M. Sharafi, L. Pourazadi // Cryobiology. - 2019. - V. 88. - P. 87-91. doi: 10.1016/j.cryobiol.2019.03.003
11. Fattah, A. L-carnitine is a survival factor for chilled storage of rooster semen for a long time / A. Fattah, M. Sharafi, R. Masoudi, A. Shahverdi, V. Esmaeili // Cryobiology. - 2017. - V. 74. - P. 13-18. doi: 10.1016/j.cryobiol.2016.12.011
12. Liaudat, A.C. Bull sperm selection by attachment to hyaluronic acid semi-interpenetrated hydrogels / A.C. Liaudat, D. Blois, V. Capella, G. Morilla, R. Rivero, C. Barbero, N. Rodríguez, C. Rivarola, P. Bosch // Reprod. Domest. Anim. - 2022. - V. 57. - No 2. - P. 228-232. doi: 10.1111/rda.13943
13. Morilla, G. Development of poly-N-isopropylacrylamide surfaces for the selection of swine sperm / G. Morilla, A.C. Liaudat, D. Blois, V. Capella, C. Rivarola, C. Barbero, P. Bosch, N. Rodríguez // Corpus J. Dairy Vet. Sci. - 2021. - V. 2. - No 3. - P. 1028-1032. doi: 10.54026/CJDVS1028
14. Khonina, T.G. Features of silicon- and titanium-polyethylene glycol precursors in sol-gel synthesis of new hydrogels / T.G. Khonina, A.P. Safronov, M.V. Ivanenko, E.V. Shadrina, O.N. Chupakhin // J. Mater. Chem. B. - 2015. - V. 3. - No 27. - P. 5490-5500. doi: 10.1039/C5TB00480B
15. Притужалова, А.О. Биотестирование тетраполиэтиленгликолята титана в 10-мольном избытке на культуре клеток гранулезы свиней / А.О. Притужалова, Т.И. Кузьмина, Т.Г. Хонина, У.С. Никулина // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. - 2024. - Т. 25. - №5. - С. 920-929. [Prituzhalova AO, Kuzmina TI, Khonina TG, Nikulina US (2024). doi: 10.30766/2072-9081.2024.25.5.920-929 (in Russ.)]
16. Donoghue, A.M. Storage of poultry semen / A.M. Donoghue, G.J. Wishart // Anim. Reprod. Sci. - 2000. - V. 62. - No 1-3. - P. 213-232. doi: 10.1016/S0378-4320(00)00160-3
17. Курбатов, А.Д. Искусственное осеменение птицы / А.Д. Курбатов, Л.Е. Нарубина, В.В. Богомолов [и др.]. - М.: Агропромиздат, 1987. -127 с. [Kurbatov AD, Narubina LE, Bogomolov VV [et al.] (1987) Artificial Insemination of Birds. Moscow, Agropromizdat Publ., 127 pp. (in Russ.)]
18. Amaral, A. Mitochondria functionality and sperm quality / A. Amaral, B. Lourenço, M. Marques, J. Ramalho-Santos // Reproduction. - 2013. - V. 146. - No 5. - P. R163-R174. doi: 10.1530/REP-13-0178
19. Sushadi, P.S. Arresting calcium-regulated sperm metabolic dynamics enables prolonged fertility in poultry liquid semen storage / P.S. Sushadi, M. Kuwabara, E.E.W. Maung, M.S. Mohamad Mohtar, K. Sakamoto, V. Selvaraj, A. Asano // Sci. Rep. - 2023. - V. 13. - No 1. - P. 21775. doi: 10.1038/s41598-023-48550-2

20. Waberski, D. Assessment of storage effects in liquid preserved boar semen / D. Waberski, H. Henning, A.M. Petrunkina // Reprod. Domest. Anim. - 2011. - V. 46. - Suppl. 2. - P. 45-48. doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01836.x

Сведения об авторах:

Курочкин А.А.: младший научный сотрудник лаб. биологии развития; kurochkin.anton.66@gmail.com.
Кузьмина Т.И.: доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, зав. лаб. биологии развития; prof.kouzmina@mail.ru.

Статья поступила в редакцию 11.06.2025; одобрена после рецензирования 16.07.2025; принята к публикации 24.08.2025.

Research article

*Effect of Titanium Tetrapolyethylene Glycolate (TTPEG*10PEG) in a Dilutant on the Viability of Rooster Spermatozoa during Prolonged Storage at Low Temperatures (5˚C)*

Anton A. Kurochkin, Tatiana I. Kuzmina

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – branch of Federal Research Center for Animal Husbandry of L.K. Ernst

Abstract. *The efficiency of TTPEG*10PEG (titanium tetrapolyethylene glycolate (TTPEG) dissolved in polyethylene glycol (PEG), 1:10) as a component of media for prolonged storage of rooster sperm at 5˚C was assessed. The control two-component medium VNIIGRZH-2 was supplemented with TTPEG*10PEG in various concentrations (0.1% in treatment T1, 0.01% in treatment T2 and 0.001% in treatment T3); the samples of sperm collected from 36-week roosters (Tsarskoselskaya breed, n=20) were diluted with these four media and exposed for 120 hrs at 5˚C. Sperm viability parameters (plasmatic membrane integrity, cellular mitochondrial potential, calcium ion content) were determined daily using a flow cytometer. It was found that modification of medium for dilution of native roosters' sperm VNIIGRZH-2 by addition of TTPEG*10PEG in concentrations 0.1; 0.01 and 0.001% resulted in no cytotoxic effect on spermatozoa during prolonged exposure at low temperatures (5˚C): plasmatic membrane integrity (as an indicator of sperm cells' viability) after 120 hrs of exposition in treatments T2 and T3 was 55.76±0.56 50.86±2.53%, respectively, vs. 40.55±1.42% in control; it was further confirmed by the maintenance of high levels of the sperm cells' mitochondrial potential in these treatments (40.13±1.92 and 52.22±0.79%, respectively, vs. 24.36±4.45% in control, p<0.05). The conclusion was made that TTPEG*10PEG can be recommended as a component of media for the dilution of native rooster sperm for subsequent long-term storage of the ejaculates at low temperatures (5˚C).*

Keywords: *native and cooled roster sperm, prolonged storage, hydrogels, mitochondrial activity.*

For Citation: *Kurochkin A.A., Kuzmina T.I. (2025) Effect of titanium tetrapolyethylene glycolate (TTPEG*10PEG) in a dilutant on the viability of rooster spermatozoa during prolonged storage at low temperatures (5˚C). Ptitsevodstvo,* ***74****(9): 13-19. (in Russ.)*
doi: 10.33845/0033-3239-2025-74-9-13-19

(For references see above)

Authors:

Kurochkin A.A.: Junior Research Officer, Lab. Of Developmental Biology; kurochkin.anton.66@gmail.com.
Kuzmina T.I.: Dr. of Biol. Sci., Prof., Chief Research Officer, Head of Lab. Of Developmental Biology; prof.kouzmina@mail.ru.
Submitted 11.06.2025; revised 16.07.2025; accepted 24.08.2025.

© **Курочкин А.А., Кузьмина Т.И., 2025**