УДК 636.082.453.52; 636.934.22

Научная статья

DOI: 10.32634/0869-8155-2024-378-1-86-91

Д.В. Попов[1] ✉
Т.Т. Глазко[1]
В.И. Глазко[1]
Е.Е. Ларина[2]
Е.С. Седлецкая[3]
Г.Ю. Косовский[1]

[1]Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева, г. о. Раменский, Московская обл., Россия

[2]Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

[3]Российский государственный аграрный университет — Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

✉ *popov.bio@gmail.com*

Поступила в редакцию:
02.08.2023

Одобрена после рецензирования:
25.12.2023

Принята к публикации:
10.01.2024

Анализ взаимосвязи частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами, качества семени и показателей воспроизводства при искусственном осеменении лисиц

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Репродуктивные биотехнологии широко применяются в различных отраслях животноводства. Их научно обоснованное применение показывает высокие результаты в получении потомства. В пушном клеточном звероводстве также методы репродуктивной биотехнологии дают определенные результаты. В то же время для повышения и прогнозирования успеха в воспроизводстве пушных зверей необходимо контролировать отбор и подбор родительских особей, в частности самцов — доноров спермы при искусственном осеменении.

Методы.

Исследования были выполнены в феврале — мае 2023 года. Объектом исследования являлись образцы эякулятов, мазки периферической крови 16 самцов серебристо-черной лисицы, а также соответствующие результаты искусственного осеменения (ИО). Для оценки эякулятов изучали: концентрацию сперматозоидов — методом фотометрии, их процентное распределение по типам движения — на системе ISAS, морфологию спермиев — методом микроскопии. В мазках периферической крови определяли частоту встречаемости эритроцитов с микроядрами с применением микроядерного теста (МЯТ). Результаты ИО оценивали по количеству и процентному соотношению забеременевших и пропустовавших самок, количеству рожденных живых и мертвых щенков.

Результаты. Результаты показали, что при частоте встречаемости эритроцитов с микроядрами выше 2‰ содержание сперматозоидов в эякулятах составляло с непоступательным движением (тип c) от 45 до 54,5%, неподвижных (тип d) — от 22,7 до 44,2%. Также в эякулятах этих самцов преобладали аномальные формы сперматозоидов (63–83%), при этом пропустовавших самок отмечалось 66–100%. В то же время самцы с результатами МЯТ менее 1,5‰ демонстрировали хорошие показатели качества эякулятов и высокую эффективность искусственного осеменения.

Ключевые слова: эякулят, микроядерный тест, качество семени, искусственное осеменение, лисицы

Для цитирования: Попов Д.В., Глазко Т.Т., Глазко В.И., Ларина Е.Е., Седлецкая Е.С., Косовский Г.Ю.

Анализ взаимосвязи частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами, качества семени и показателей воспроизводства при искусственном осеменении лисиц. *Аграрная наука*. 2024; 378(1): 86–91. https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-378-1-86-91

© Попов Д.В., Глазко Т.Т., Глазко В.И., Ларина Е.Е., Седлецкая Е.С., Косовский Г.Ю.

Research article

DOI: 10.32634/0869-8155-2024-378-1-86-91

Dmitry V. Popov[1] ✉
Tatyana T. Glazko[1]
Valery I. Glazko[1]
Elena E. Larina[2]
Evgeniya S. Sedletskaya[3]
Gleb Yu. Kosovsky[1]

[1]Scientific Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V.A. Afanas'ev, Rodniki, Moscow Region, Russia

[2]Moscow state Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA by K.I. Scriabin, Moscow, Russia

[3]Russian State Agrarian University — Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russia

✉ *popov.bio@gmail.com*

Received by the editorial office:
02.08.2023

Accepted in revised:
25.12.2023

Accepted for publication:
10.01.2024

Analysis of the relationship between the frequency of erythrocytes with micronuclei, semen quality and reproductive indicators in artificial insemination of foxes

ABSTRACT

Relevance. Reproductive biotechnologies are widely used in various branches of animal husbandry. Their scientifically based application shows high results in obtaining offspring. In fur-bearing cellular animal husbandry, reproductive biotechnology methods also give certain results. At the same time, in order to increase and predict the success in reproduction of fur-bearing animals, it is necessary to control the selection and selection of parental individuals, in particular male sperm donors during artificial insemination.

Methods. The studies were performed in February — May 2023. The object of the study were ejaculate samples, peripheral blood smears of 16 silver-black fox males, as well as the corresponding results of artificial insemination (AI). To evaluate ejaculates, the following were studied: sperm concentration — by photometry, their percentage distribution by type of movement — on the ISAS system, sperm morphology — by microscopy. In peripheral blood smears, the frequency of occurrence of erythrocytes with micronuclei was determined using a micronucleus test (MTA). The results of the IO were evaluated by the number and percentage of pregnant and missing females, the number of live and dead puppies born.

Results. The results showed that with the frequency of occurrence of erythrocytes with micronuclei above 2%, the sperm content in ejaculates was from 45 to 54.5% with non-accessible movement (type c), and from 22.7 to 44.2% stationary (type d). Also, abnormal sperm forms prevailed in the ejaculates of these males (63–83%), while 66–100% of missing females were noted. At the same time, males with MINTS of less than 1.5% demonstrated good ejaculate quality and high efficiency of artificial insemination.

Key words: ejaculate, micronucleus test, sperm quality, artificial insemination, foxes

For citation: Popov D.V., Glazko T.T., Glazko V.I., Larina E.E., Sedletskaya E.S., Kosovsky G.Yu. Analysis of the relationship between the frequency of erythrocytes with micronuclei, semen quality and reproductive indicators in artificial insemination of foxes. *Agrarian science.* 2024; 378(1): 86–91 (In Russian). https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-378-1-86-91

© Popov D.V., Glazko T.T., Glazko V.I., Larina E.E., Sedletskaya E.S., Kosovsky G.Yu.

Введение/Introduction

Уровень воспроизводства в любой отрасли животноводства — один из основных критериев оценки успешности хозяйственной деятельности предприятия.

С целью систематического и своевременного получения потомства в хозяйствах различных отраслей животноводства применяются как классические способы и подходы воспроизводства, так и инновационные высокотехнологичные методы репродуктивной биотехнологии. Звероводческие предприятия, специализирующиеся на разведении клеточных пушных зверей и получении шкурковой продукции, не являются исключением и при проведении технологических мероприятий по воспроизводству (гон) используют не только классические подходы (спаривание), но и различные методы репродуктивной биотехнологии. Так, на звероводческих фермах, где разводят представителей семейства куньих, перед гоном или в его период для повышения количества щенят, индукции фолликулогенеза и овуляции у самок применяют различные гормональные препараты[1] [1].

В хозяйствах, где специализируются на разведении песцов и лисиц, кроме гормональных обработок, применяют метод искусственного осеменения, который, как показывает практика, позволяет достичь хороших результатов.

По данным, полученным в работе японских исследователей, в течение нескольких сезонов воспроизводства при естественном спаривании показатели зачатия после одного, двух и трех случек составили 55,8%, 68,0% и 85,7% соответственно.

В то же время оплодотворяемость при искусственном осеменении составляла 82,4%, при этом средний размер помета — 3,7–4,3 щенка при естественном осеменении, 4,4 щенка — при искусственном осеменении [2].

В другой работе этих же исследователей при проведении искусственного осеменения рыжих лисиц замороженно-оттаянным семенем, собранным с использованием электроэякулятора, показатель оплодотворяемости был 81,3% (13 из 16 лисиц), при этом индекс жизнеспособности сперматозоидов составил 47 ± 3, расчетный индекс жизнеспособности после размораживания демонстрировал 72,3% восстановления [3].

Однако, несмотря на то что показатели применения репродуктивных биотехнологий и классического спаривания на фермах по разведению лисиц и песцов достигают хороших результатов, в различные сезоны воспроизводства отмечается непостоянство относительного количества успешно осемененных самок, размера помета и относительного количества благополучно рожденных и выживших щенят [4].

Установлено, что в разные годы исследования при искусственном осеменении относительное количество забеременевших самок было различным и составляло от 66,8 до 83,4%, при этом выход щенков на основную самку также был разным — от 3,4 ± 0,03 до 4,3 ± 0,003[2].

Имеются данные, свидетельствующие о том, что у самцов лисицы может встречаться до 20% сперматозоидов с различными аномалиями [5], что может оказывать влияние на показатели воспроизводства.

Загрязнение окружающей среды, применение антибиотиков и гормональных препаратов, качество корма и питьевой воды, различные метаболические нарушения оказывают негативное влияние на репродуктивные качества различных биологических объектов [6–9]. Эти проявления требуют контролируемого подхода к подбору и отбору родительских особей, как при естественном спаривании, так и при выборе доноров спермопродукции, для проведения искусственного осеменения. Традиционным и доступным в практической работе способом оценки семени считается микроскопическое исследование эякулятов самцов-производителей. Также существует компьютерный метод исследования семени с помощью систем CASA (Computer Aided Sperm Analysis). Данный метод более точный, исключает фактор субъективности, но предполагает соблюдение определенных технических требований к получению, транспортировке, разбавлению семени [10].

В целях прогнозирования репродуктивного успеха при применении биотехнологических методов воспроизводства в животноводстве успешно используется такой биологический показатель, как частота встречаемости различных характеристик геномной нестабильности соматических клеток, ассоциированный с изменчивостью частот появления аномальных сперматозоидов [11]. К таким показателям, в частности, относится количество эритроцитов с микроядрами, отражающее потенциальную геномную нестабильность доноров спермы.

Для того чтобы определить частоту встречаемости эритроцитов с микроядрами, в 1970 году был разработан микроядерный тест (МЯТ) [12]. Метод остается актуальным и сегодня, и с применением микроядерного теста на различных биологических моделях проводится внушительное количество исследований, направленных на выявление взаимосвязи частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами и репродуктивными показателями [13–17].

Применяется метод оценки геномной нестабильности по характеристикам соматических клеток и с целью изучения возможной взаимосвязи между повышенной частотой встречаемости эритроцитов с микроядрами в периферической крови с аномалиями в сперматозоидах, бесплодием, невынашиванием беременности, преэклампсией и задержкой внутриутробного развития у человека [18].

Цель исследования — изучение взаимосвязи между показателями микроядерного теста, характеристиками эякулятов самцов лисицы и результатами искусственного осеменения лисиц их семенем для повышения успешности биотехнологических процедур по искусственному осеменению в зверохозяйствах.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Образцы эякулятов, неокрашенные мазки крови, результаты искусственного осеменения для исследования были представлены кафедрой частной зоотехнии Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА им. К.И. Скрябина.

Для проведения исследования использовали эякуляты, полученные от 16 голов 3–4-летних самцов серебристо-черной лисицы, а также мазки их периферической крови.

Семя отбирали методом мастурбации[2], далее отбирали 0,5–1,0 мл для исследования и разбавляли в

[1] Мосин В.А., Дурманов Н.Д., Пустовой В.В. Патент RU 2 076 732 C1. Препарат для управления половым циклом животных «ФСГ-супер» Опубликовано 4.10.1997.

[2] Жвакина А.Р. Искусственное осеменение и криоконсервация семени для сохранения и рационального использования генетических ресурсов лисиц и песцов: специальность 06.02.09 — Звероводство и охотоведение: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. пос. Родники, Московская обл. 2012; 23.

пропорции 1:1 средой Galap (IMV, Франция). Оставшееся семя использовали для искусственного осеменения самок. Разбавленные образцы в течение пяти часов доставляли в лабораторию ветеринарной клиники РГАУ — МСХА им. К.А. Тимирязева для дальнейшей оценки их качества.

Концентрацию сперматозоидов (млн/мл) определяли методом фотометрии на приборе SDM-1 (Minitube, Германия).

Компьютерный анализ проводили на системе ISAS (Integrated Semen Analysis System, ISAS, Projected I Serveis R + D S.L., Испания).

Качество спермиев по типам движения и их процентному распределению в эякуляте: подвижные с быстрым поступательным движением — тип a, подвижные с медленным поступательным движением — тип b, подвижные с непоступательным движением (колебательное, маятникообразное, манежное) — тип c, неподвижные — тип d.

Морфологическую оценку сперматозоидов проводили с целью выявления, подсчета и определения процентного распределения нормальных и аномальных форм сперматозоидов в эякулятах. Для этого из эякулятов готовили мазки и проводили их оценку и подсчет сперматозоидов по методике, представленной в руководстве ВОЗ[3] по исследованию и обработке эякулята человека.

Классификацию сперматозоидов проводили по принципу «нормальный — аномальный»[3], при этом учитывали следующие дефекты:

- дефекты головки –— большая или маленькая, конусообразная, грушевидная, круглая, аморфная, вакуолизированная; двухголовый или любая комбинация вышеназванных дефектов;
- дефекты шейки и средней части — асимметричное прикрепление средней части к головке (гетероаксиальность), толстая или с неправильным контуром, чрезмерно изогнутая, аномально тонкая или любая комбинация названных характеристик;
- дефекты основной части жгутика — короткая, множественная, сломанная, шпилькообразная, с резко выраженным углом, ширина с неправильным контуром, скрученная или любая комбинация названных характеристик.

Для выполнения микроядерного теста были приготовлены цитогенетические препараты — мазки крови. Кровь брали методом срезания когтя на среднем пальце тазовой конечности. Мазки крови окрашивали по Романовскому — Гимзе. Подсчет эритроцитов с микроядрами проводили под микроскопом MIS-8000 (C&A Scientific Co Inc, Китай) с использованием иммерсионного объектива при увеличении x1000. В каждом препарате подсчитывалось количество эритроцитов, содержащих микроядра (ЭМЯ), в расчете на 3000 клеток по следующей формуле:

(Количество ЭМЯ) / 3000 × 100.

Частоту встречаемости эритроцитов с микроядрами выражали в промилле (‰). Процедуру искусственного осеменения проводили однократно разбавленным семенем в соотношении 1:3 в течение 2–3 часов после взятия эякулята. Для оценки эффективности процедуры искусственного осеменения учитывали: количество и процентное соотношение забеременевших и пропустовавших самок, а также количество рожденных живых и мертвых щенков.

Для выявления статистически зависимых показателей использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена[4].

Результаты и обсуждение / Results and discussion

В результате исследований эякулятов, полученных от самцов лисицы, было установлено, что общая концентрация сперматозоидов в разбавленных (1:1) образцах имела различные значения и колебалась от 47 до 172 млн/мл (табл. 1).

Таблица 1. **Показатели МЯТ и эякулятов самцов лисицы**
Table 1. **Parameters of MNT and ejaculates of male foxes**

№ образца	Показатели эякулятов					МЯТ, ‰
	концентрация сперматозоидов, млн/мл	распределение сперматозоидов по типам движения, %				
		a	b	c	d	
1	78	14,3	17,1	30	38,6	1,95
2	67	22,7	0	54,5	22,7	2,13
3	107	21,4	0	50	28,6	2,45
4	114	15,1	9,0	45,7	30,2	1,92
5	60	9,3	0	46,5	44,2	2,31
6	47	25	0	45	30	2,53
7	69	61,9	0	16,5	21,6	1,78
8	83	57,3	21,7	14,5	6,5	1,53
9	78	62,4	23,1	0	14,5	1,32
10	89	48,1	31,5	0	20,4	1,47
11	101	72,2	18,8	0	9	1,22
12	77	65,8	20,0	7,4	6,8	1,41
13	93	82,3	10,3	0,0	7,4	0,89
14	68	87,4	0	11,5	1,1	1,13
15	108	81,6	11,3	7,1	0	0,53
16	172	84,9	0	9,5	5,6	0,97

При этом было установлено, что степень влияния концентрации сперматозоидов в эякулятах самцов лисицы минимальна на результаты искусственного осеменения (ИО) и не имеет статистически значимых отличий. Так, высокая эффективность процедуры ИО лисиц отмечалась как при высокой концентрации сперматозоидов (образцы 15–100 млн/мл — 100% беременных самок, 16–172 млн/мл — 75% беременных самок), так и при средней (образцы 14–68 млн/мл и 12–70 млн/мл — 100% беременных самок), и, наоборот, при искусственном осеменении лисиц образцами с высокой концентрацией сперматозоидов в эякулятах забеременевших самок не отмечалось (3–107млн/мл; при осеменении образцом 4–114 млн/мл было только 33,3% забеременевших самок) (табл. 1, 2).

В то же время результаты искусственного осеменения лисиц и анализ на системе ISAS семени показывают, что одним из определяющих факторов успешности процедуры ИО было процентное распределение сперматозоидов по типу движения в эякулятах. Высокое процентное содержание в эякулятах сперматозоидов с типом движения a + b (более 50%) обеспечивало 100%-ный результат осеменения в семи случаях (образцы 9–15), 75% — в двух случаях (образцы 8 и 16), 50% — в одном случае (образец 7).

Необходимо отметить, что в образце 7 хотя и был высокий процент сперматозоидов с быстрым поступательным движением (тип a) (61,9%), но полностью

[3] Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека (под ред. д. б. н., проф. Л.Ф Курило). 5-е изд. Капитал Принт. 2012; 305.
4 https://medstatistic.ru/methods/methods9.html

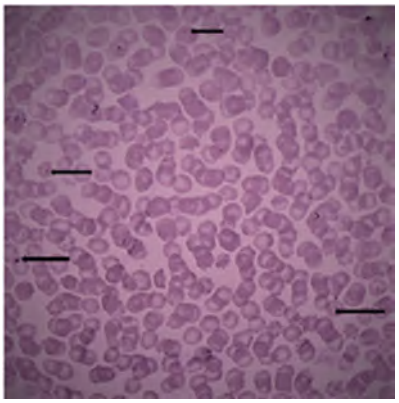
Таблица 2. **Результаты искусственного осеменения лис**

Table 2. **Results of artificial insemination**

№ образца	Показатели ИО				
	ИО самок голов	Пропустовало самок, голов (%)	Беременных самок, голов (%)	Родилось щенков живых, голов	Родилось щенков мертвых, голов
1	2	1 (50)	1 (50)	2	3
2	3	2 (66,6)	1 (33,3)	4	2
3	1	1 (100)	0	0	0
4	3	2 (66,6)	1 (33,3)	4	0
5	5	5 (100)	0	0	0
6	6	6 (100)	0	0	0
7	3	2 (50)	1 (50)	3	0
8	4	1 (25)	3 (75)	6	0
9	3	0	3 (100)	9	0
10	1	0	1 (100)	3	0
11	2	0	2 (100)	10	0
12	3	0	3 (100)	9	1
13	2	0	2 (100)	5	1
14	3	0	3 (100)	17	2
15	4	0	4 (100)	21	2
16	4	1 (25)	3 (75)	15	1

Рис. 1. Мазок периферической крови самца лисицы. Стрелочками указаны отдельные эритроциты с наличием микроядра. Микроскоп MIS-8000, увеличение ×1000, окраска по Романовскому — Гимзе

Fig. 1. Peripheral blood smear of a male fox. Arrows indicate individual erythrocytes with the presence of micronuclei. Microscope MIS-8000, ×1000 magnification, Romanowsky — Giemsa staining



отсутствовали сперматозоиды с медленным поступательным движением (тип b), определялось довольно высокое содержание сперматозоидов с непоступательным движением (колебательное, маятникообразное, манежное — тип c) — таких было 16,5%, а также неподвижных (тип d) — 21,6%.

В то же время образцы 1–6 имели низкое содержание сперматозоидов с быстрым поступательным движением (тип a), а сперматозоиды с медленным поступательным движением определялись только в эякулятах 1 и 4. Во всех образцах (с 1 по 6) отмечалось высокое содержание сперматозоидов с непоступательными движениями (тип c) и (или) неподвижных (тип d). Результаты ИО этими эякулятами были низкие и составляли: максимум 50% — в одном случае (образец 1), 33,3% — в двух случаях (образцы 2 и 4), отсутствие беременности — в трех случаях (образцы 3, 5 и 6).

При проведении микроядерного теста установлено, что у самцов, эякуляты (образцы 1–6) которых показали низкие результаты при ИО, частота встречаемости эритроцитов с микроядрами составила от 1,92 до 2,53‰. Частота встречаемости эритроцитов с микроядрами (рис. 1) в мазках крови превысила 2,0‰ в биообразцах животных 3–2,45‰, 5–2,31‰ и 6 2,53‰, сперма которых при ИО не имела успеха, и только у образца 3—2,13‰ положительный результат ИО был в одном случае из трех. В то же время самцы, эякуляты которых продемонстрировали высокие результаты ИО, имели показатели микроядерного теста (МЯТ) ниже, и частота встречаемости эритроцитов с микроядрами составила от 0,53 до 1,53‰ (табл. 1, 2).

При оценке и выявлении морфологически нормальных и аномальных форм сперматозоидов в исследуемых образцах эякулятов были получены следующие значения (табл. 3). В образцах 1–6 морфологически нормальных сперматозоидов определялось не более 37% (образец 4), при этом, как было отмечено, показатели микроядерного теста у данных самцов имели высокие значения — от 1,92 до 2,53‰. В этих эякулятах преобладали аномальные формы сперматозоидов — от 63 до 83%. При этом была установлена прямая корреляция между повышением частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами и повышением в эякулятах сперматозоидов с аномальными формами ($p < 0,05$).

Распределение по видам аномальных форм сперматозоидов в этих образцах было неравномерным, и некоторые сперматозоиды имели множественные формы аномалий, то есть у одного и того же сперматозоида отмечались, например, и аномалия головки, и аномалия жгутика (рис. 2). Кроме того, прослеживалась тенденция, показывающая, что у самцов, в мазках крови которых частота встречаемости эритроцитов превышала

Таблица 3. **Показатели морфологической оценки эякулятов самцов лисицы и результаты МЯТ**

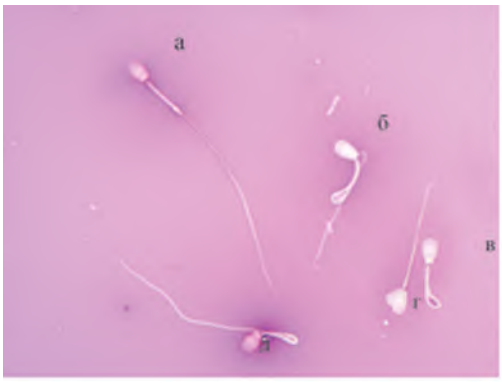
Table 3. **Morphological evaluation indicators of male fox ejaculate and results of MNT**

№ образца	Показатели					
	Результаты МЯТ ‰*	Морфологически нормальные формы (%) в эякуляте	Аномальные формы, в том числе (%) в эякуляте*	Распределение (в %) аномальных форм сперматозоидов в эякуляте		
				аномалия головки, %	аномалия шейки, %	аномалия жгутика, %
1	1,95	25	75	35	26	43
2	2,13	22	78	53	23	38
3	2,45	18	82	57	25	39
4	1,92	37	63	47	24	40
5	2,31	17	83	66	21	43
6	2,53	18	82	65	19	41
7	1,78	51	49	41	21	38
8	1,53	87	13	15	7	15
9	1,32	91	9	7	9	7
10	1,47	83	17	8	8	6
11	1,22	85	15	5	0	3
12	1,41	82	18	3	0	4
13	0,89	95	5	0	0	4
14	1,13	91	9	4	0	5
15	0,53	100	0	0	0	0
16	0,97	89	11	0	0	3

Примечание: * $p < 0,05$ — высокая зависимость между частотой повышения эритроцитов с микроядрами и содержанием аномальных форм сперматозоидов в эякулятах.

Рис. 2. Сперматозоиды лисицы: а — нормальный сперматозоид; б, д — аномальный сперматозоид (асимметричное прикрепление средней части к головке, чрезмерно изогнутая средняя часть); в — аномальный сперматозоид (чрезмерно изогнутая средняя часть, скрученный жгутик); г — аномальный сперматозоид (двухголовый, скрученный жгутик). Микроскоп Olympus CX 31, увеличение ×1000, окраска — эозин + нигрозин

Fig. 2. Fox spermatozoa: a — normal sperm; b, d — abnormal sperm (asymmetric attachment of the middle part to the head, excessively curved middle part); c — abnormal sperm (excessively curved middle part, twisted flagellum); d — abnormal sperm (two-headed, twisted flagellum). Olympus CX 31 microscope, magnification ×1000, color — eosin + nigrosin



2‰, преобладали формы аномалий головки (образцы 3 — 2,13‰/53% сперматозоидов с аномалией головки, 3 — 2,45‰/57%, 5 — 2,31‰/66%, 6 — 2,53‰/65%). По частоте встречаемости среди аномалий преобладали сперматозоиды с измененными жгутиками по сравнению с аномальными формами шейки, в эякулятах таких сперматозоидов встречалось от 38 до 43%.

В образцах 7–16, где исследовались эякуляты самцов, у которых частота встречаемости эритроцитов с микроядрами не превышала 1,53‰, преобладали морфологически нормальные сперматозоиды, их относительное количество составляло от 82 до 100%. У трех образцов (13, 15 и 16) практически отсутствовали сперматозоиды с аномалиями головки и шейки.

Эякуляты, в которых преобладали сперматозоиды с типом движения a и b, показали хорошие результаты искусственного осеменения, данный показатель ассоциирован с фертильными качествами семени. В то же время в эякулятах с низкими оплодотворяющими способностями преобладали сперматозоиды с непоступательным движением (тип c) и неподвижные (тип d). Было установлено, что эякуляты с низкой оплодотворяющей способностью получены от самцов с высокими показателями МЯТ, частота встречаемости эритроцитов с микроядрами в мазках, приготовленных из периферической крови, взятой у этих самцов, превышала 2‰. Отмечено, что в этих эякулятах преобладали морфологически аномальные сперматозоиды и в процентном распределении встречаемости аномалий чаще встречались аномалии головки и жгутиков, что могло сказаться на оплодотворяющей способности сперматозоидов и их подвижности.

Выводы/Conclusion

1. Концентрация сперматозоидов в эякулятах самцов лисицы не оказывала существенного влияния на результаты ИО, 75–100%-ная оплодотворяемость отмечалась как при высокой концентрации (172 млн/мл), так и при средней (68 млн/мл).

2. Высокое процентное содержание в эякулятах сперматозоидов с типом движения a + b (более 50%) обеспечивало 100%-ный положительный результат ИО лисиц;

3. Выявлена высокая зависимость ($p < 0,05$) между частотой повышения эритроцитов с микроядрами и содержанием аномальных форм сперматозоидов в эякулятах.

4. Установлено, что эякуляты с низкой оплодотворяющей способностью получены от самцов с высокими показателями МЯТ, частота встречаемости эритроцитов с микроядрами в мазках, приготовленных из периферической крови, взятой у этих самцов, превышала 2‰.

Все авторы несут ответственность за работу и представленные данные.
Все авторы внесли равный вклад в работу.
Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.
Авторы объявили об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors made an equal contribution to the work.
The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.
The authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования России.

FUNDING

The research was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of Russia.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ireland J.J., Martin T.L., Ireland J.L.H., Aulerich R.J. Immunoneutralization of Inhibin Suppresses Reproduction in Female Mink. *Biology of Reproduction*. 1992; 47(5): 746–750. https://doi.org/10.1095/biolreprod47.5.746

2. Yatu M. *et al.* Breeding profiles at the periparturient stage in captive red foxes (*Vulpes vulpes*) mating naturally or subjected to artificial insemination in Japan. *Journal of Veterinary Research*. 2019; 63(2): 299–302. https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0031

3. Yatu M. *et al.* Collection and frozen storage of semen for artificial insemination in red foxes (*Vulpes vulpes*). *Journal of Veterinary Medical Science*. 2018; 80(11): 1762–1765. https://doi.org/10.1292/jvms.17-0433

4. Farstad W., Fougner J.A., Torres C.G. The optimum time for single artificial insemination of blue fox vixens (*Alopex lagopus*) with frozen-thawed semen from silver foxes (*Vulpes vulpes*). *Theriogenology*. 1992; 38(5): 853–865. https://doi.org/10.1016/0093-691x(92)90161-j

5. Jalkanen L. Sperm abnormalities in silver fox (*Vulpes vulpes*) semen selected for artificial insemination. *Journal of reproduction and fertility. Supplement.* 1993; 47: 287–290.

6. Khushboo M. *et al.* Dietary phytoestrogen diosgenin interrupts metabolism, physiology, and reproduction of Swiss albino mice: Possible mode of action as an emerging environmental contaminant, endocrine disruptor and reproductive toxicant. *Food and Chemical Toxicology*. 2023; 176: 113798. https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113798

REFERENCES

1. Ireland J.J., Martin T.L., Ireland J.L.H., Aulerich R.J. Immunoneutralization of Inhibin Suppresses Reproduction in Female Mink. *Biology of Reproduction*. 1992; 47(5): 746–750. https://doi.org/10.1095/biolreprod47.5.746

2. Yatu M. *et al.* Breeding profiles at the periparturient stage in captive red foxes (*Vulpes vulpes*) mating naturally or subjected to artificial insemination in Japan. *Journal of Veterinary Research*. 2019; 63(2): 299–302. https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0031

3. Yatu M. *et al.* Collection and frozen storage of semen for artificial insemination in red foxes (*Vulpes vulpes*). *Journal of Veterinary Medical Science*. 2018; 80(11): 1762–1765. https://doi.org/10.1292/jvms.17-0433

4. Farstad W., Fougner J.A., Torres C.G. The optimum time for single artificial insemination of blue fox vixens (*Alopex lagopus*) with frozen-thawed semen from silver foxes (*Vulpes vulpes*). *Theriogenology*. 1992; 38(5): 853–865. https://doi.org/10.1016/0093-691x(92)90161-j

5. Jalkanen L. Sperm abnormalities in silver fox (*Vulpes vulpes*) semen selected for artificial insemination. *Journal of reproduction and fertility. Supplement.* 1993; 47: 287–290.

6. Khushboo M. *et al.* Dietary phytoestrogen diosgenin interrupts metabolism, physiology, and reproduction of Swiss albino mice: Possible mode of action as an emerging environmental contaminant, endocrine disruptor and reproductive toxicant. *Food and Chemical Toxicology*. 2023; 176: 113798. https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113798

7. Mhaibes A.A., Madhi A.S., Hasan B.F. Physiological and Histological Effects of Ginseng Oil on Reproductive Efficiency in Adult Male Rats. *Archives of Razi Institute*. 2023; 78(1): 145–150. https://doi.org/10.22092/ARI.2022.358488.2229

8. Lismer A., Kimmins S. Emerging evidence that the mammalian sperm epigenome serves as a template for embryo development. *Nature Communications*. 2023; 14: 2142. https://doi.org/10.1038/s41467-023-37820-2

9. Mustafa M., Dar S.A., Azmi S., Haque S. The Role of Environmental Toxicant-Induced Oxidative Stress in Male Infertility. Roychoudhury S., Kesari K.K. (eds.). Oxidative Stress and Toxicity in Reproductive Biology and Medicine. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol. 1391. Cham: *Springer*. 2022; 17–32. ttps://doi.org/10.1007/978-3-031-12966-7_2

10. Fernandez-Novo A. *et al.* Effect of Extender, Storage Time and Temperature on Kinetic Parameters (CASA) on Bull Semen Samples. *Biology*. 2021; 10(8): 806. https://doi.org/10.3390/biology10080806

11. Rubeš J., Hořínová Z., Gustavsson I., Borkovec L., Urbanová J. Somatic chromosome mutations and morphological abnormalities in sperms of boars. *Hereditas*. 1991; 115(2): 139–143. https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1991.tb03548.x

12. Новгородова И.П. Возможности использования микроядерного анализа для выявления генных мутаций животных. *Аграрная наука*. 2023; (2): 23–29. https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-367-2-23-29

13. Marchetti F., Rowan-Carroll A., Williams A., Polyzos A., Berndt-Weis M.L., Yauk C.L. Sidestream tobacco smoke is a male germ cell mutagen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011; 108(31): 12811–12814. https://doi.org/10.1073/pnas.1106896108

14. Ceyca-Contreras J.P., Castillo-Guerrero J.A., Torres-Bugarín O., García-Hernández J., Betancourt-Lozano M. Micronuclei in embryos of eight seabird species in northwestern Mexico: A biomarker of exposure to coastal pollution?. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2023; 887: 503615. https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2023.503615

15. Huang Y., Roig I. Genetic control of meiosis surveillance mechanisms in mammals. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2023; 11: 1127440. https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1127440

16. Косовский Г.Ю., Карелина Т.К., Прокопенко Т.В., Стрельцова Е.А., Голованова Е.В. Цитогенетическая характеристика самцов кроликов с различной воспроизводительной способностью при формировании селекционной группы. *Аграрный научный журнал*. 2021; (10): 88–92. https://doi.org/10.28983/asj.y2021i10pp88-92

17. Глазко Т.Т., Попов Д.В., Бригида А.В., Косовский Г.Ю. Взаимосвязь геномной нестабильности и эмбриопродуктивности у коров — доноров эмбрионов. *Ветеринария Кубани*. 2015; (6): 9–11. https://www.elibrary.ru/vbreid

18. Fenech M. Micronuclei and their association with sperm abnormalities, infertility, pregnancy loss, pre-eclampsia and intrauterine growth restriction in humans. *Mutagenesis*. 2011; 26(1): 63–67. https://doi.org/10.1093/mutage/geq084

7. Mhaibes A.A., Madhi A.S., Hasan B.F. Physiological and Histological Effects of Ginseng Oil on Reproductive Efficiency in Adult Male Rats. *Archives of Razi Institute*. 2023; 78(1): 145–150. https://doi.org/10.22092/ARI.2022.358488.2229

8. Lismer A., Kimmins S. Emerging evidence that the mammalian sperm epigenome serves as a template for embryo development. *Nature Communications*. 2023; 14: 2142. https://doi.org/10.1038/s41467-023-37820-2

9. Mustafa M., Dar S.A., Azmi S., Haque S. The Role of Environmental Toxicant-Induced Oxidative Stress in Male Infertility. Roychoudhury S., Kesari K.K. (eds.). Oxidative Stress and Toxicity in Reproductive Biology and Medicine. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol. 1391. Cham: *Springer*. 2022; 17–32. https://doi.org/10.1007/978-3-031-12966-7_2

10. Fernandez-Novo A. *et al.* Effect of Extender, Storage Time and Temperature on Kinetic Parameters (CASA) on Bull Semen Samples. *Biology*. 2021; 10(8): 806. https://doi.org/10.3390/biology10080806

11. Rubeš J., Hořínová Z., Gustavsson I., Borkovec L., Urbanová J. Somatic chromosome mutations and morphological abnormalities in sperms of boars. *Hereditas*. 1991; 115(2): 139–143. https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1991.tb03548.x

12. Novgorodova I.P. Possibilities of using micronucleus analysis to detect gene mutations in animals. *Agrarian science*. 2023; (2): 23–29 (In Russian). https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-367-2-23-29

13. Marchetti F., Rowan-Carroll A., Williams A., Polyzos A., Berndt-Weis M.L., Yauk C.L. Sidestream tobacco smoke is a male germ cell mutagen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011; 108(31): 12811–12814. https://doi.org/10.1073/pnas.1106896108

14. Ceyca-Contreras J.P., Castillo-Guerrero J.A., Torres-Bugarín O., García-Hernández J., Betancourt-Lozano M. Micronuclei in embryos of eight seabird species in northwestern Mexico: A biomarker of exposure to coastal pollution?. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2023; 887: 503615. https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2023.503615

15. Huang Y., Roig I. Genetic control of meiosis surveillance mechanisms in mammals. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2023; 11: 1127440. https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1127440

16. Kosovskiy G.Yu., Karelina T.K., Prokhorenko T.V., Streltsova E.A., Golovanova E.V. Cytogenetic characteristics of male rabbits with different reproductive capacity in the formation of a breeding group. *Agrarian Scientific Journal*. 2021; (10): 88–92 (In Russian). https://doi.org/10.28983/asj.y2021i10pp88-92

17. Глазко Т.Т., Попов Д.В., Бригида А.В., Косовский Г.Ю. Взаимосвязь геномной нестабильности и эмбриопродуктивности у коров — доноров эмбрионов. *Ветеринария Кубани*. 2015; (6): 9–11. https://www.elibrary.ru/vbreid

18. Fenech M. Micronuclei and their association with sperm abnormalities, infertility, pregnancy loss, pre-eclampsia and intrauterine growth restriction in humans. *Mutagenesis*. 2011; 26(1): 63–67. https://doi.org/10.1093/mutage/geq084

ОБ АВТОРАХ

Дмитрий Владимирович Попов[1]
кандидат биологических наук
popov.bio@gmail.com
https://orcid.org/0000-0001-7422-5470

Татьяна Теодоровна Глазко[1]
доктор сельскохозяйственных наук, профессор
https://orcid.org/0000-0002-3879-6935

Валерий Иванович Глазко[1]
доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик Российской академии наук (иностранный член)
https://orcid.org/0000-0002-8566-8717

Елена Евгеньевна Ларина[2]
кандидат сельскохозяйственных наук
https://orcid.org/ 0000-0002-4734-5773

Евгения Сергеевна Седлецкая[3]
кандидат ветеринарных наук
https://orcid.org/0000-0002-4798-8971

Глеб Юрьевич Косовский[1]
доктор биологических наук, член-корреспондент Российской академии наук
https://orcid.org/0000-0003-3808-3086

[1]Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева,
ул. Трудовая, 6, пос. Родники, Раменский р-н, Московская обл., 140143, Россия

[2]Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА им. К.И. Скрябина,
ул. Академика Скрябина, 23, Москва, 109472, Россия

[3]Российский государственный аграрный университет — Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева,
ул. Тимирязевская, 49, Москва, 127550, Россия

ABOUT THE AUTHORS

Dmitry Vladimirovich Popov[1]
Candidate of Biological Sciences
popov.bio@gmail.com
https://orcid.org/number 0000-0001-7422-5470

Tatyana Teodorovna Glazko[1]
Doctor of Agricultural Sciences, Professor
https://orcid.org/0000-0002-3879-6935

Valery Ivanovich Glazko[1]
Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences (foreign member)
https://orcid.org/0000-0002-8566-8717

Elena Evgenievna Larina[2]
Candidate of Agricultural Sciences
https://orcid.org/ 0000-0002-4734-5773

Evgenia Sergeevna Sedletskaya[3]
Candidate of Veterinary Sciences
https://orcid.org/0000-0002-4798-8971

Gleb Yurievich Kosovsky[1]
Doctor of Biological Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences
https://orcid.org/0000-0003-3808-3086

[1]Scientific Research Institute of Fur Farming and rabbit breeding named after V.A. Afanasyev
6 Trudovaya Str., Rodniki village, Ramensky district, Moscow region, 140143, Russia

[2]Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MBA named after K.I. Scriabin,
23 Academician Scriabin Str., Moscow,109472, Russia

[3]Russian State Agrarian University — Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev,
49 Timityazevskaya Str., Moscow, 127550, Russia