

Криорезистентность сперматозоидов

УДК 636.32/.38:591.463.1:636.082.12

doi: 10.15389/agrobiology.2017.2.268rus

ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕМЕНИ У ГИБРИДОВ РОМАНОВСКОЙ ПОРОДЫ И АРХАРА*

В.А. БАГИРОВ, Б.С. ИОЛЧИЕВ, Н.А. ВОЛКОВА, Н.А. ЗИНОВЬЕВА

Криоконсервация генетического материала и искусственное осеменение — важнейшие элементы вспомогательных репродуктивных технологий. Создание криобанков биоматериала, полученного от высокоценных производителей, обеспечивает получение максимально возможного количества потомков. Эта технология позволяет более эффективно использовать генетический материал, сохранять и восстанавливать численность редких и исчезающих видов, а также проводить скрещивание и гибридизацию между изолированными популяциями. Сперматозоиды служат наиболее распространенным биоматериалом, используемым в программах по сохранению и восстановлению генетических ресурсов дикой фауны и домашних животных, что связано с доступностью и легкостью получения спермы. В овцеводстве использование репродуктивной технологии носит локальный характер. Одна из причин этого — низкая эффективность заморозено-оттаянного семени, получаемого от баранов-производителей. Замораживание и оттаивание приводят к гибели значительной часть клеток, повреждению их отдельных органелл или сегментов. Свойства спермы гибридных баранов, полученных посредством скрещивания домашних и диких видов *Ovis*, остаются неизученными. Целью представленного исследования была оценка влияния цикла замораживания и оттаивания на биологические параметры семени баранов-производителей романовской породы и гибридов с архаром (*Ovis ammon*). Материалом для исследований служила сперма гибридных баранов с разной долей кровности по романовской породе и архару: гибрид F₁ ($n = 1$, 50 % крови архара, получен посредством хирургического осеменения романовской овцы заморозено-оттаянным семенем архара), возвратный кросс BC₁ ($n = 5$, 25 % крови архара, получен при скрещивании романовских овец с бараном F₁), возвратный кросс BC₂ ($n = 5$, 12,5 % крови архара, получен посредством скрещивания романовских овец с баранами BC₁). Сперму романовского барана (ROM) использовали в качестве контроля. Все бараны находились в одинаковых условиях кормления и содержания. Были изучены качественные и количественные показатели свежеполученного и замороженного семени, в частности процентное соотношение подвижных и неподвижных сперматозоидов, их криорезистентность, состояние акросомы и степень конденсации хроматина. При криоконсервации семени, полученного как от гибридных, так и от чистопородных животных, происходило снижение биологической полноценности сперматозоидов. У гибридных животных после криоконсервации подвижность сперматозоидов уменьшалась на 47,0 %, у чистопородных — на 50,0 %. Выявлено повышение криорезистентности у F₁ по сравнению с чистопородными животными на 9,0 %, осмотической резистентности — на 20,0 %, дегидрогеназной активности — на 44,5 %. Со снижением доли кровности дикого вида отмечалось нивелирование различий по этим показателям: между группами BC₂ и ROM они составляли по криорезистентности 2,2 %, по осмотической резистентности — 4,7 %, по дегидрогеназной активности — 10,0 %, по содержанию интактных акросом — 3,2 %, по аномалии головки сперматозоидов — 1,0 %, по степени фрагментации ДНК — 34,0 %.

Ключевые слова: гибриды, архар, криоконсервация, сперматозоиды, замораживание-оттаивание.

Искусственное осеменение — один из основных элементов воспроизводства сельскохозяйственных животных. Эффективное ведение животноводства на современном этапе невозможно без применения этого метода (1-5). Важнейшим звеном вспомогательной репродуктивной технологии считается криоконсервация биологического материала: генеративной плазмы, эмбрионов, половых и соматических клеток (6-8).

Наиболее распространенным генетическим материалом, используемым в программах по сохранению и восстановлению генетических ресурсов дикой фауны и домашних животных, служат сперматозоиды (9). Это связано с доступностью и легкостью получения спермы (5-6 млрд половых клеток на один эякулят). Кроме того, для многих видов животных разра-

* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 16-14-00039. При проведении исследований было использовано оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста.

ботана технология искусственного осеменения с использованием заморожено-оттаянного семени.

Криоконсервация спермы позволяет накапливать запас жизнеспособного генеративного материала от высокоценных производителей, более эффективно его использовать, получать максимальное количество потомства, сохранять и восстанавливать численность редких и исчезающих видов, а также проводить скрещивание и гибридизацию между изолированными популяциями. Криоконсервация сперматозоидов состоит из нескольких взаимосвязанных технологических обработок семени, которые приводят к изменениям отдельных структурных единиц сперматозоидов, что часто сопровождается снижением их биологической полноценности (10-14). Показано влияние цикла замораживания-оттаивания на морфологию сперматозоидов (15-19). У всех сельскохозяйственных животных при использовании криоконсервированного семени выход потомства снижается. По мнению ряда исследователей, это связано с уменьшением подвижности сперматозоидов, поскольку для достижения яйцеклетки они должны иметь высокую скорость прямолинейного поступательного движения (20). Низкую вероятность оплодотворения яйцеклетки также имеют сперматозоиды с высокой активностью, но наличием ультраструктурных, биохимических, функциональных повреждений (21, 22).

Применение вспомогательной репродуктивной технологии в овцеводстве носит локальный характер, что связано с невысокой эффективностью криоконсервации семени баранов. Его значительно труднее замораживать, чем сперму других видов млекопитающих. Около 10 % эякулята, полученного от баранов с использованием современных разбавителей и протоколов, криоконсервации не подвергаются (23), в связи с чем требуется оптимизировать технологию криоконсервации сперматозоидов у этого вида животных.

В качестве одного из перспективных способов генетического совершенствования пород овец рассматривается прилитие крови диких видов. Во Всероссийском НИИ животноводства им. Л.К. Эрнста создана модельная популяция, включающая гибридов домашних романовских овец (*Ovis aries*) и архара (*O. ammon*) с разной долей кровности дикого вида. Было показано изменение биологических и продуктивных показателей у особей, несущих кровь диких животных, по сравнению с исходным домашним видом (24, 25). Создан банк семени гибридных животных (26).

В настоящем исследовании мы впервые изучили показатели биологической полноценности семени гибридных баранов с разной долей кровности по романовской породе и архару в сравнении с их чистопородными аналогами. Показано влияние криоконсервации на криорезистентность, осмотическую резистентность и дегидрогеназную активность семени. Отмечено повышение этих показателей у гибридных животных, свидетельствующее о более высокой криоустойчивости их семени по сравнению с семенем чистопородных баранов.

Цель представленной работы заключалась в изучении влияния цикла замораживания и оттаивания на биологические параметры сперматозоидов гибридных (с кровью архара) и чистопородных романовских баранов-производителей.

Методика. Материалом для исследований служила сперма гибридных баранов с разной долей кровности по романовской породе и архару: гибрид F₁ ($n = 1$, 50 % крови архара, получен посредством хирургического осеменения романовской овцы заморожено-оттаянным семенем архара), возвратный кросс BC₁ ($n = 5$, 25 % крови архара, получен при скрещива-

нии романовских овец с бараном F₁), возвратный кросс BC₂ (n = 5, 12,5 % крови архара, получен посредством скрещивания романовских овец с баранами BC₁). Сперму романовских баранов (ROM) (n = 3) использовали в качестве контроля. Все бараны находились в одинаковых условиях кормления и содержания. Были изучены показатели качества свежеполученного разбавленного и замороженно-оттаянного семени.

Сбор семени проводили в искусственную вагину. Разбавление, глубокое замораживание и оттаивание осуществляли в соответствии с собственной методикой криоконсервации семени баранов в гранулах.

Для распознавания и оценки каждого сперматозоида по заданным параметрам использовали программное обеспечение Зоосперм 1.0 (ООО «ВидеоТест», г. Санкт-Петербург, Россия). Принцип работы этой программы основан на обработке видеоизображений (27). Целостность акросом изучали при дифференциальном окрашивании с применением набора Диахим-Дифф-Квик («АБРИС+», Россия). Индекс фрагментации ДНК в хроматине определяли, выявляя наличие разрывов в ДНК с помощью теста с акридиновым оранжевым (АО-тест) и флуоресцентной микроскопии («Nikon», Япония).

Данные обрабатывали статистически с помощью пакета программ Microsoft Office. В таблицах представлены средние (X) и их отклонения (x).

Результаты. Анализ подвижности сперматозоидов в свежеполученном и замороженном семени гибридных животных и их чистопородных аналогов не выявил значительных различий по этому показателю. Доля сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением (класс А + В) в обеих экспериментальных группах была практически одинаковой: у гибридных животных — 90,0 % для свежеполученного семени и 43,0 % после криоконсервации, у чистопородных — соответственно 93,0 и 43,0 %. Доля сперматозоидов класса С (с маневрным движением) и класса Д (неподвижные) в свежеполученном семени у гибридов не превышала 4,3 и 5,7 %, у чистопородных животных — 3,6 и 3,4 %. В процессе замораживания-оттаивания количество неподвижных сперматозоидов у гибридных баранов увеличивалось до 48,6 %, у их чистопородных аналогов — до 51,2 %.

Показатели осмотической и гипоосмолярной резистентности, а также дегидрогеназной активности сперматозоидов у гибридных и чистопородных животных находились в пределах установленных требований (табл. 1). Вместе с тем они были выше у гибридов. Различия между ROM и F₁ составили по показателю криорезистентности 9,0 %, осмотической резистентности — 20,0 %, дегидрогеназной активности — 44,5 %. С увеличением числа поколений различия нивелировались: в третьем поколении гибриды превосходили своих чистопородных аналогов по криорезистентности на 2,2 %, по осмотической резистентности — на 4,7 %, по дегидрогеназной активности — на 10,0 %.

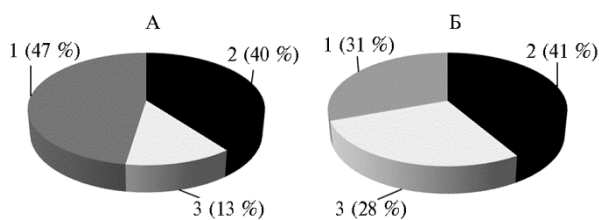
1. Показатели криоустойчивости сперматозоидов, полученных от гибридных и чистопородных романовских баранов (X±x)

Группа	Криорезистентность	Осмотическая резистентность	Дегидрогеназная активность, мин
ROM	0,44±0,02	0,21±0,06	7,82±0,65
F ₁	0,48±0,03	0,25±0,08	11,31±0,38
BC ₁	0,45±0,02	0,23±0,06	9,09±0,47
BC ₂	0,43±0,03	0,22±0,01	8,61±0,22

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика».

Изучение влияния криоконсервации на морфометрические показатели сперматозоидов выявило некоторые различия между экспериментальными группами. Доля сперматозоидов с нарушенной морфологией в свежем эякуляте, полученном от гибридных баранов, составляла 10,7 %, что было на 3,1 % выше аналогичного показателя для чистопородных животных. Наблюдалась разница между группами

по частоте встречаемости аномальной морфологии отдельных сегментов сперматозоидов. Более высокий процент нарушений в строении сперматозоидов у чистопородных производителей отмечали в области жгутика, у гибридных баранов — в средней части (рис.).



Частота нарушений морфологии в отдельных сегментах сперматозоидов у баранов-производителей романовской породы (А) и гибридов с архаром (*Ovis ammon*) (в среднем по трем группам) (Б) в замороженно-оттаянном семени: 1 — аномалии жгутика, 2 — аномалии головки, 3 — аномалии средней части.

Оценка состояния акросом и степени фрагментации хроматина сперматозоидов в свежеполученном и замороженном семени выявила снижение показателей у гибридных животных по сравнению с чистопородными аналогами. Разница между романовскими баранами и экспериментальными группами ВС₁ и ВС₂ по количеству сперматозоидов с интактными акросомами для свежеполученного семени составила 2,5-3,2 %,

2. Оценка сперматозоидов у гибридных и чистопородных романовских баранов по состоянию акросом и степени фрагментации хроматина до и после криоконсервации ($\bar{X} \pm x$)

Группа	Доля сперматозоидов с интактными акросомами, %		Степень фрагментации хроматина, %	
	СПС	ЗОС	СПС	ЗОС
ROM	92,4±5,2	90,3±8,7	11,6±3,9	12,7±1,7
F ₁	96,5±6,7	88,3±4,7	8,6±2,8	12,7±3,5
BC ₁	89,9±8,3	86,4±5,7	6,5±2,7	9,5±2,4
BC ₂	89,2±1,6	85,1±4,6	8,2±3,8	12,3±3,2

Примечание. СПС — свежеполученное семя, ЗОС — замороженно-оттаянное семя. Описание групп см. в разделе «Методика».

интактными акросомами при повышении индекса фрагментация ДНК. У гибридных животных различия были более выраженными и составили соответственно 4,6-8,4 % и 45,1-47,6 %, у чистопородных — 2,2 и 9,5 %.

Таким образом, после криоконсервации семени, полученного как от гибридных, так и от чистопородных животных отмечалось снижение биологической полноценности сперматозоидов. Семя гибридов было более криоустойчивым по сравнению со спермой романовских баранов: у гибридных животных в процессе криоконсервации подвижность сперматозоидов снизилась на 47,0 %, у чистопородных — на 50,0 %. Показатели криорезистентности сперматозоидов у гибридов также были повышены по сравнению с исходной домашней формой. Со снижением доли кровности архара и приближением по кровности к домашней форме различия по таким биологическим параметрам, как криорезистентность, осмотическая резистентность и дегидрогеназная активность, нивелировались: разница между производителями материнской породы и гибридами ВС₂ составляла соответственно 2,2, 4,7 и 10,0 %. В эякуляте гибрида F₁ содержание сперматозоидов с интактными акросомами было выше на 4,1 %. В свежеполу-

При замораживании и оттаивании число сперматозоидов с нарушенной морфологией повышалось как у гибридных, так и у чистопородных животных. При этом процентное соотношение частоты встречаемости аномального строения в отдельных сегментах сперматозоидов внутри экспериментальных групп практически не изменялось.

для замороженно-оттаянного — 3,9-5,2 %, по степени фрагментации хроматина — соответственно 25,8-43,9 и 0-21,2 % (табл. 2). При этом мы не выявили корреляции между изменением представленных показателей и долей кровности архара.

В процессе замораживания-оттаивания во всех группах отмечалось снижение доли сперматозоидов с

ченном эякуляте гибридов степень фрагментации ДНК в хроматине оказалась ниже, чем у исходной романовской породы.

ФГБНУ Всероссийский НИИ животноводства
им. академика Л.К. Эрнста,
142132 Россия, Московская обл., Подольский р-н, пос. Дубровицы, 60,
e-mail: vugarbagirov@mail.ru, baylar1@yandex.ru

Поступила в редакцию
30 декабря 2016 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2017, V. 52, № 2, pp. 268-273

EFFECT OF CRYOPRESERVATION ON BIOLOGICAL PARAMETERS OF SEMEN IN ROMANOV BREED × ARGALI HYBRID RAMS

V.A. Bagirov, B.S. Iolchiev, N.A. Volkova, N.A. Zinovieva

L.K. Ernst All-Russian Research Institute of Animal Husbandry, Federal Agency of Scientific Organizations, 60, pos. Dubrovitsy, Podolsk Region, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail vugarbagirov@mail.ru, baylar1@yandex.ru
ORCID:

Bagirov V.A. orcid.org/0000-0001-5398-8815

Volkova N.A. orcid.org/0000-0001-7191-3550

Iolchiev B.S. orcid.org/0000-0001-5386-7263

Zinovieva N.A. orcid.org/0000-0003-4017-6863

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Science Foundation (grant № 16-14-00039)

Received December 30, 2016

doi: 10.15389/agrobiol.2017.2.268eng

Abstract

Cryopreservation of genetic material and artificial insemination is an important element of assisted reproductive technologies. Establishing cryobanks of biomaterial, derived of high-valuable breeding rams, provides the production of the maximal number of offspring. This technology allows more effectively use the genetic material with higher efficiency, save and restore the populations of rare and endangered species and carry out crossbreeding and hybridization between isolated populations. The most common biomaterials are the sperm, which are used in the programs for the conservation and restoration of wild and domestic genetic resources. This is associated with the availability and easiness of producing sperm. In sheep breeding, the use of reproductive technology has the local character in contrast to other livestock industries. One reason for this is the low efficiency of application of frozen-thawed ram semen that is caused by some complexities involved in sperm cryopreservation of this animal species. During the freezing and thawing process, the sperm undergoes significant technological impact. Some stages of this process are the shock to semen and lead to the destruction of a large part of cells or to the damaging their individual organelles or segments. Less is known about the freezing capacity of sperm derived from hybrid rams, which are produced by hybridization of domestic and wild *Ovis* species. Taking this into account the aim of our research was to study the effect of freezing and thawing process on the biological parameters of sperm derived from purebred Romanov ram and hybrid rams carrying argali (*Ovis ammon*) blood. As a material for our research, we used the sperm of hybrid rams of different origin: F₁ ($n = 1$, 50 % argali, produced by surgical insemination of Romanov ewe with frozen-thawed sperm of argali ram); BC₁ ($n = 5$, 25 % argali blood, produced by backcrossing of Romanov ewes with F₁ ram); BC₂ ($n = 5$, 12.5 % of argali blood, produced by backcrossing of Romanov ewes with BC₁ rams). The sperm of purebred Romanov ram (RAM) was used as a control. Qualitative and quantitative parameters of freshly derived and frozen semen of the experimental animals, the percentage of motile and immobile spermatozoa, their cryoresistance, the state of the acrosome and the degree of chromatin condensation were studied. The motility of spermatozoa was decreased significantly in sperm of both of hybrid and purebred rams (by 47 and 50 %, respectively). The cryoresistance of spermatozoa of F₁ hybrid ram was increased by 9 %, the osmotic resistance increased — by 20 % and dehydrogenase activity — by 44.5 % comparing to purebred Romanov ram. With the decrease of blood ratio of wild species, the decrease in differences for above-mentioned parameters was observed: the differences between BC₂ and ROM were 2.2, 4.7 and 10.0 %, respectively.

Keywords: argali hybrids, cryopreservation, sperm, freeze-thaw.

REFERENCES

1. Epishina T.M. *Sovershenstvovanie sposobov povysheniya vosproizvoditel'nykh kachestv svinei i ovets. Doktorskaya dissertatsiya* [Improved methods to increase reproduction in pigs and sheep. DSci Thesis]. Moscow, 2011 (in Russ.).
2. Lucy M.C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.*, 2001, 84(6): 1277-1293 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0).
3. Washburn S.P., Silvia W.J., Brown C.H., McDaniel B.T., McAllister A.J.

- Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J. Dairy Sci.*, 2002, 85: 244-251 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74073-3).
4. Silvia W.J. Changes in reproductive performance of Holstein dairy cows in Kentucky from 1972 to 1996. *J. Dairy Sci.*, 1998, 81: 244.
 5. Iolchiev B.S., Bagirov V.A., Zinov'eva N.A., Klenovitskii P.M., Tadzhiyeva A.V., Sulima N.N.. *Molochnoe i myasnoe skotovodstvo*, 2014, 8: 6-8 (in Russ.).
 6. Bagirov V.A., Okhlopkov I.M., Zinov'eva N.A. *Snezhnyi baran Yakutii: geneticheskoe raznoobraziye i puti sokhraneniya genofonda* [*Ovis nivicola nivicola* in Yakutia: biodiversity and gene pool preservation]. Dubrovitsy, 2016 (in Russ.).
 7. Andrabi S.M.H., Maxwell W.M.C. A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. *Anim. Reprod. Sci.*, 2007, 99(3-4): 223-243 (doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.07.002).
 8. Boettcher P.J., Akin O. Current arrangements for national and regional conservation of animal genetic resources. *Animal Genetic Resources*, 2010, 47: 73-83 (doi: 10.1017/S2078633610000949).
 9. Pizzi F., Duclos D., Woelders H., Mäki-Tanila A. Role and state of cryopreservation in local cattle breeds. In: *Local cattle breeds in Europe. Development of policies and strategies for self-sustaining breeds*. S.J. Hiemstra, Y. de Haas, A. Mäki-Tanila, G. Gandini (eds.). Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 2010: 78-96 (ISBN 978-90-8686-144-6).
 10. Erokhin A.S., Epishina T.M., Chernova I.E. *Problemy kriokonservatsii semeni baranov. V sb.: Sovremennyye aspekty seleksii, biotekhnologii, informatizatsii v plemennom zhivotnovodstve* [Recent aspects of breeding, biotechnology, informatics in pedigree livestock]. Moscow, 1997: 233-248 (in Russ.).
 11. Kurbatov A.D., Platonov E.M., Korban N.V. *Kriokonservatsiya spermy sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh* [Cryoconservation of farm animal semen]. Leningrad, 1988 (in Russ.).
 12. Narizhnyi A.G., Porfir'ev I.A., Savin O.K. *Svinoferma*, 2005, 4: 17-19 (in Russ.).
 13. Amann R., Pickett B. Principles of cryopreservation and a review of stallion spermatozoa. *J. Equine Vet. Sci.*, 1987, 7(3): 145-173 (doi: 10.1016/S0737-0806(87)80025-4).
 14. Purdy P.H. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Res.*, 2006, 63: 215-225 (doi: 10.1016/j.smallrumres.2005.02.015).
 15. Hammadeh M.E., Askari A.S., Georg T., Rosenbaum P., Schmidt W. Effect of freeze-thawing procedure on chromatin stability, morphological and membrane integrity of human spermatozoa in fertile and subfertile men. *Int. J. Androl.*, 1999, 22: 155-162 (doi: 10.1046/j.1365-2605.1999.00162.x).
 16. Buhr M.M., Fiser P., Bailey J.L., Curtis E.F. Cryopreservation in different concentrations of glycerol alters boar sperm and their membranes. *J. Androl.*, 2001, 22: 961-969 (doi: 10.1002/j.1939-4640.2001.tb03436.x).
 17. Chenoweth P.J. Genetic sperm defects. *Theriogenology*, 2005, 64: 457-468 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.05.005).
 18. Purwantara B., Arifiantini R.I., Riyadhi M. Sperm morphological assessments of Friesian Holstein bull semen collected from three artificial insemination centers in Indonesia. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 2010, 2: 89-94 (doi: 10.14710/jitaa.35.2.90-94).
 19. Padrik P., Jaakma U. Sperm morphology in Estonian Holstein dairy bulls, factors affecting it and relation to fertility. *Agraarteadus*, 2002, 13: 243-256.
 20. Watson P.F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 2000, 60: 481-492 (doi: 10.1016/S0378-4320(00)00099-3).
 21. Salamon S., Maxwell W.M.C. Frozen storage of ram semen: II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. *Anim. Reprod. Sci.*, 1995, 38: 1-36 (doi: 10.1016/0378-4320(94)01328-J).
 22. Iolchiev B.S., Tadzhiyeva A.V., Bagirov V.A., Klenovitskii P.M., Sulima N.N. *Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Puti prodleniya produktivnoi zhizni molochnykh korov na osnove optimizatsii razvedeniya, tekhnologii soderzhaniya i kormleniya zhivotnykh»* [Proc. Int. Conf. «Improved production performance in dairy cows: breeding, rearing, and feedings»]. Dubrovitsy, 2015: 197-199 (in Russ.).
 23. Blackburn H. Development of national animal genetic resource programs. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2004, 16: 27-32 (doi: 10.10371/RD03075).
 24. Dvalishvili V.G., Vinogradov I.S. *Zootekhnika*, 2015, 4: 17-19 (in Russ.).
 25. Bogolyubova N.V., Romanov V.N., Devyatkin V.A., Gusev I.V., Bagirov V.A., Zinov'eva N.A. Biological parameters for digestive and metabolic processes in interspecies hybrids of domestic sheep (*Ovis aries*) and argali (*Ovis ammon polii*). *Agricultural Biology*, 2016, 51(4): 500-508 (doi: 10.15389/agrobiology.2016.4.500eng) (in Engl.).
 26. Bagirov V., Iolchiev B., Zhilinskij M., Klenovitskij P., Zinov'eva N. Establishment of semen bank of wild *Ovis* species and their hybrids with domestic sheep. *Reprod. Domest. Anim.*, 2016, 51(Suppl. 2): 72-73 (doi: 10.1111/rda.12801).
 27. Iolchiev B.S., Bagirov V.A., Klenovitskij P.M., Kononov V.P., Nasibov S.N., Voevodin V.A. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, 2011, 9: 46-48 (in Russ.).