

## КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ СПЕРМЫ ЖЕРЕБЦОВ В РАЗНЫЕ МЕСЯЦЫ ГОДА

А.В. ТКАЧЕВ, Ю.И. КОРОВИН, О.Л. ТКАЧЕВА

(Технологический колледж РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева)

*Известно, что сезонность репродуктивной функции гораздо более выражена у кобыл, чем у жеребцов. Кобыла переживает период анэструса осенью и зимой, в то время как сперматогенез у жеребцов продолжается в течение всего года. Поэтому актуальными являются исследования криорезистентности спермы жеребцов в разные месяцы года. Целью исследования было изучение криорезистентности спермы жеребцов в разные месяцы года при криоконсервировании генетического материала в период интенсивного племенного использования производителей. Криорезистентность спермы жеребцов при их интенсивном племенном использовании была наилучшей с сентября по декабрь в период полового покоя. Наибольшая переживаемость спермиев была в декабре месяце, что на 0,44% больше, чем в октябре; на 5,12% больше, чем в ноябре; на 7,62% больше ( $P < 0,05$ ), чем в сентябре; на 20,53% ( $P < 0,01$ ) больше, чем в январе; на 27,3% ( $P < 0,01$ ) больше, чем в феврале; на 52,7% ( $P < 0,001$ ) больше, чем в марте; на 137,9% ( $P < 0,05$ ) больше, чем в апреле; на 34,12% ( $P < 0,001$ ) больше, чем в мае; на 23,5% ( $P < 0,001$ ) больше, чем в июне; на 59,7% больше ( $P < 0,001$ ), чем в июле. Переживаемость спермиев после оттаивания в термостате при 37°C менее 3 ч наблюдалась в марте, апреле и июле. Наименьшая подвижность спермиев после размораживания наблюдалась в апреле, что на 36,4% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в июле; на 38,6% ( $P < 0,001$ ) меньше, чем в мае; на 45,12% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в июне; на 50,1% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в январе; на 52,6% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в феврале; на 43,75% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в марте; на 53,8% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в сентябре; на 55% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в октябре; на 54,4% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в ноябре; на 54,1% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в декабре. Исходя из полученных данных о подвижности деконсервированных спермодоз, мы вправе ожидать наибольшую оплодотворяющую способность от того генетического материала, который заготовлен с сентября по декабрь.*

**Ключевые слова:** криорезистентность эякулятов, физиологические особенности, сперма жеребцов, месяц года.

### Введение

Лошади являются племенными животными с длительным сроком хозяйственного использования. Поэтому создание криобанков их генетического материала имеет большое значение для селекции. Известно, что сезонность репродуктивной функции гораздо более выражена у кобыл, чем у жеребцов. Кобыла переживает период анэструса осенью и зимой, в то время как сперматогенез у жеребцов продолжается в течение всего года несмотря на то, что имеются данные о снижении концентрации тестостерона зимой [1–2].

Исследований влияния сезона года на репродуктивную функцию жеребцов в странах с развитым коневодством довольно много. Одни авторы показали, что для

свежей спермы объем эякулята является самым высоким в сезон размножения (весна-лето) по сравнению с сезоном, не связанным с размножением (осень-зима). Аналогично авторы описывали количество сперматозоидов в эякуляте. Анализ концентрации и подвижности сперматозоидов дал противоречивые результаты. Сообщалось, что максимальный и минимальный показатель подвижности наблюдался как в зимний, так и в летний периоды [3–4].

Различия в наблюдениях за подвижностью сперматозоидов могут быть связаны с различиями в методах, которые используются для анализа в этих характеристиках. Например, одни авторы использовали визуальные методы оценки подвижности, которые были субъективными, в то время как другие предпочитают компьютерный анализ. Кроме того, необходимо учитывать более вероятные причины противоречивых результатов, которые могут включать в себя индивидуальные, возрастные и породные особенности лошадей. Другие исследователи описывают низкий процент сперматозоидов с нормальной морфологией летом, а затем процент патологических форм спермиев увеличивается осенью [5–6].

Лучший способ оценить противоречивые результаты влияния сезона года на репродуктивную функцию жеребцов – выяснить, имеют ли они «физиологический смысл». На первый взгляд кажется логичным, чтобы лучшие физиологические характеристики спермы были у жеребцов весной в случной период, потому что лучшей сперма должна быть в естественный период размножения вида. Однако если жеребец интенсивно используется в случной период, то функциональные резервы репродуктивной функции быстро истощаются, и в сперме можно наблюдать большее количество патологических форм, меньшую подвижность спермиев и меньший объем эякулята [7–8].

Несмотря на то, что описаны существенные сезонные различия в параметрах нативной спермы жеребцов, качество спермы после замораживания-оттаивания может быть сопоставимо между разными сезонами года. Более того, ряд авторов, наоборот, рекомендует создавать криобанки спермопродукции жеребцов именно в период межсезонья и отдыха их от интенсивного использования в естественной случке [9–11].

Расхождения в результатах между исследованиями нативной и замороженно-оттаянной спермы жеребцов при криоконсервировании генетического материала могут быть вызваны применением различных технологий, разбавителей, используемыми аналитическими методами оценки семени, индивидуальными, породными и климатическими особенностями при проведении исследований. Исходя из вышеизложенного необходимы дополнительные исследования, чтобы определить оптимальные месяцы года для криоконсервирования генетического материала лошадей российской селекции [14–15].

**Цель исследований:** изучение криорезистентности спермы жеребцов в разные месяцы года при криоконсервировании генетического материала в период интенсивного племенного использования производителей.

Задачей исследований являлось установление физиологических особенностей нативной спермы в разные месяцы года и показателей спермы после замораживания-оттаивания в разные месяцы года.

### **Методика исследований**

Исследование криорезистентности семени выполняли с 2005 по 2022 гг. в России и Украине на 1835 нативных эякулятах, которые были получены от 71 жеребца-производителя. Лошади были племенными и принадлежали 9 верховым и рысистым породам (верховые породы: украинская, чистокровная, тракененская, ганноверская,

бельгийская, вестфальская, арабская; легкоупряжные породы: орловская, русская). Полученные данные группировали по месяцам календарного года и высчитывали среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего значения ( $\pm m$ ). Забор эякулятов осуществляли с применением искусственной вагины закрытого типа, которая автоклавировалась не менее 30 мин при температуре 120°C. Работы по криоконсервированию генетического материала осуществлялись по Харьковской экспедиционно-стационарной технологии с применением уникального замораживателя. В нативной сперме определяли: объем эякулята, см<sup>3</sup>; подвижность сперматозоидов визуально, баллы (1 балл составляет 10% спермиев с прямолинейно-поступательным движением), в световом микроскопе Jenaval (Carl Zeiss, Германия) при увеличении объектива 10–20×; концентрацию спермиев, млн/см<sup>3</sup>, в камере Горяева. В деконсервированных спермодозах определяли: подвижность сперматозоидов визуально, баллы; переживаемость спермиев, ч, в суховоздушном термостате при 37°C [11–13].

Статистический подсчет результатов экспериментальных данных проводили рутинными методиками вариационной статистики с применением критерия Стьюдента в программе SPSS for Windows («IBM», USA) [11–13].

### Результаты и их обсуждение

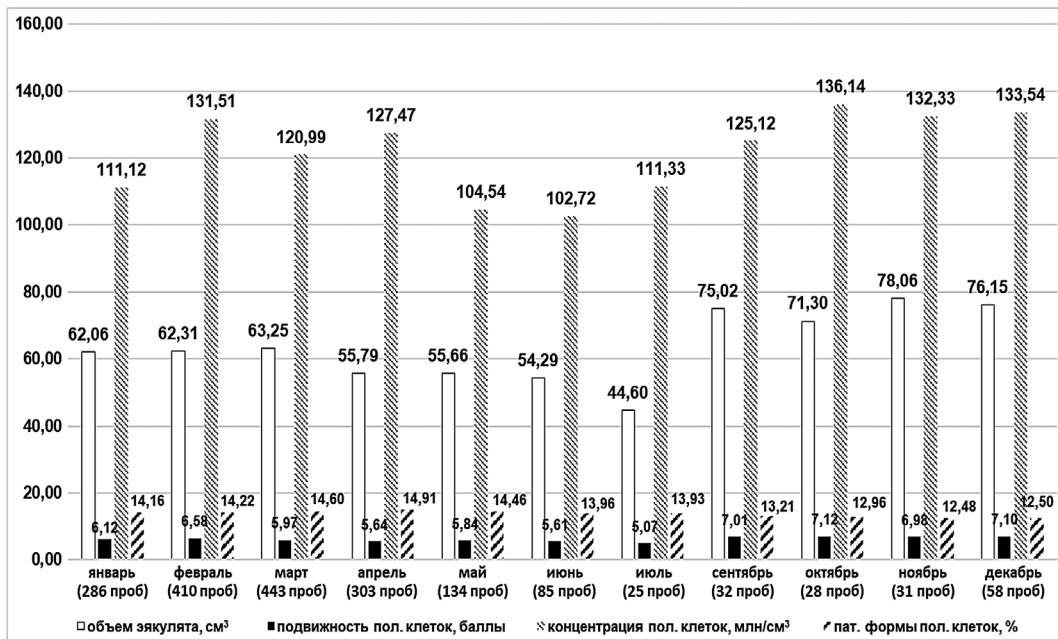
Результаты исследований репродуктивной функции жеребцов при криоконсервировании генетического материала по месяцам года (рис. 1) свидетельствуют о том, что, начиная с января и февраля, объем эякулята и подвижность спермиев уменьшались до июля. Это можно объяснить истощением половой функции в случной период в результате интенсивного использования производителей.

Объем эякулята важен с точки зрения получения большего количества спермодоз, что особенно актуально в случае высокой племенной ценности жеребца. Наибольший объем эякулята наблюдался с сентября по декабрь (более 70 см<sup>3</sup>) с максимумом в ноябре, что было больше на 14,81–16 см<sup>3</sup>, или на 18,9–20,5% ( $P < 0,001$ ), в сравнении с данными января-марта, когда в конных заводах стартует случной сезон. К апрелю-июню репродуктивная функция жеребца заметно истощается в результате интенсивной случки, что выражается снижением объема эякулята менее 56 см<sup>3</sup>. Минимальный объем эякулята наблюдался в июле, что на 42,9% (на 33,46 см<sup>3</sup>) меньше ( $P < 0,001$ ) максимального объема в ноябре.

Подвижность спермиев имеет ключевое значение при криоконсервировании эякулятов. При подвижности нативной спермы менее 5 баллов (менее 50%) осуществлять замораживание просто нецелесообразно, так как после оттаивания подвижность получается менее 2,5 баллов, что недопустимо с точки зрения действующих государственных стандартов. Подвижность спермиев была наибольшей в период полового покоя жеребцов с сентября по декабрь – более 7 баллов. Наибольшая подвижность спермиев отмечалась в октябре, что на 28,8% больше ( $P < 0,001$ ), чем в июле, с минимальной активностью половых клеток; на 7,6–21,2% больше ( $P < 0,05–0,001$ ) в сравнении с показателями января-мая, на которые приходится наибольшее количество садок естественной случки.

Таким образом, исходя из динамики объема эякулята и подвижности спермиев, для получения большего количества спермодоз генетического материала целесообразно заготавливать спермопродукцию с сентября по декабрь.

Концентрация спермиев также имеет большое значение для увеличения количества заготовленного генетического материала племенных жеребцов. Чем выше количество половых клеток в единице объема эякулята, тем больше степень разбавления эякулята и тем больше будет получено спермодоз.



**Рис. 1.** Динамика физиологических показателей нативной спермы жеребцов в зависимости от месяца года (n = 1835)

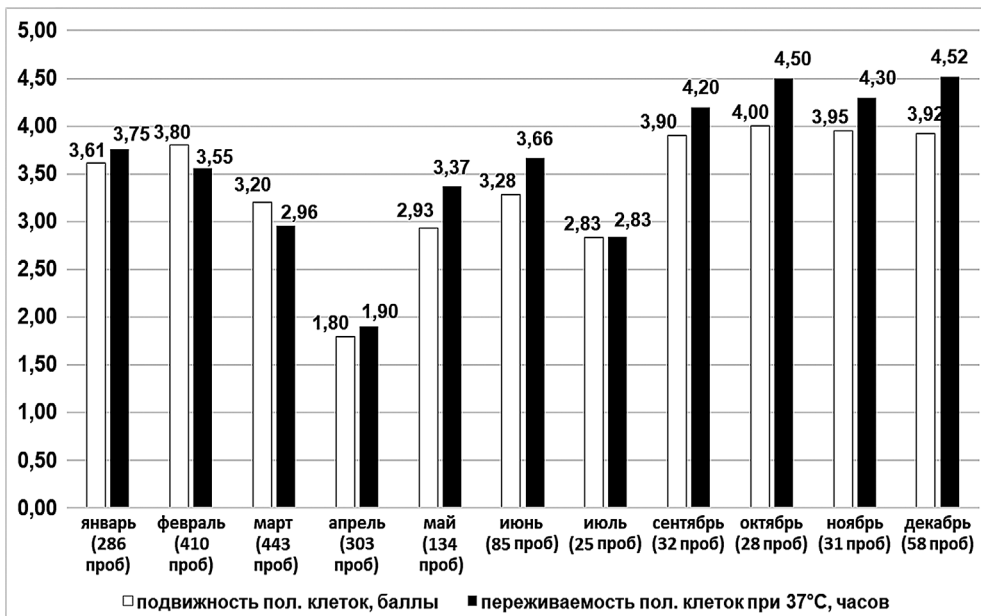
Анализ динамики концентрации половых клеток позволяет заключить, что наименьшим данный показатель был в июне, что на 24,5% (на 33,42 млн/см<sup>3</sup>) меньше ( $P < 0,001$ ) максимальной концентрации в октябре; на 1,74% меньше, чем в мае; на 19,42% меньше ( $P < 0,01$ ), чем в апреле; на 15,1% меньше ( $P < 0,01$ ), чем в марте; на 21,9% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в феврале; на 7,6% меньше ( $P < 0,05$ ), чем в январе; на 7,7% меньше ( $P < 0,05$ ), чем в июле; на 17,9% меньше ( $P < 0,01$ ), чем в сентябре; на 22,38% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в ноябре; на 23,1% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в декабре.

Таким образом, с точки зрения динамики концентрации спермиев наиболее эффективной будет заготовка генетического материала с сентября по декабрь, в феврале и апреле.

По мнению зарубежных авторов, важной характеристикой нативной спермы жеребцов является количество патологических форм спермиев, так как именно этот показатель характеризует завершенность сперматогенеза и косвенно ассоциируется с оплодотворяющей способностью спермы в целом. Чем более полноценной является каждая половая клетка, тем выше может быть оплодотворяющая способность эякулята в целом. Для криоконсервирования спермы жеребцов более предпочтительными являются эякуляты с низким процентом патологических форм спермиев [1, 3, 4, 14–15]. Наименьшее количество патологических спермиев наблюдалось с октября по декабрь (менее 13%) с наименьшим значением в ноябре. С июня по сентябрь процент патологических форм половых клеток колебался от 13 до 14%, а с января по май – с 14 до 15%.

Полученные нами данные согласуются с современными публикациями зарубежных авторов, которые отмечают, что оценка физиологических характеристик нативной спермы при криоконсервировании генетического материала является важной с точки зрения прогноза эффективности замораживания и результативности искусственного осеменения. Однако охарактеризовать криорезистентность семени можно только после размораживания спермодоз и определения характеристик оттаянной спермы [1, 3, 4, 14–15].

Динамика результатов размораживания спермы жеребцов при криоконсервировании спермопродукции представлена на рисунке 2.



**Рис. 2.** Динамика криорезистентности спермы жеребцов в зависимости от месяца года (n = 1835)

Анализ подвижности спермиев свидетельствует о том, что в период племенного использования жеребца криоконсервирование генетического материала является наиболее продуктивным с сентября по декабрь, так как в эти месяцы наблюдалась наибольшая активность половых клеток после размораживания на уровне 3,9–4 баллов (39–40%). Наименьшая подвижность спермиев после размораживания наблюдалась в апреле, что на 36,4% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в июле; на 38,6% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в мае; на 45,12% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в июне; на 50,1% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в январе; на 52,6% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в феврале; на 43,75% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в марте; на 53,8% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в сентябре; на 55% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в октябре; на 54,4% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в ноябре; на 54,1% меньше ( $P < 0,001$ ), чем в декабре.

Исходя из полученных данных о подвижности деконсервированных спермодоз, мы вправе ожидать наибольшую оплодотворяющую способность от того генетического материала, который заготовлен с сентября по декабрь.

Полученные нами данные согласуются с современными публикациями зарубежных авторов, которые отмечают, что результативность искусственного осеменения кобыл зависит не только от подвижности оттаянной спермы, но также и от ее переживаемости вне организма. Чем дольше живут сперматозоиды, тем выше вероятность их встречи с яйцеклеткой. В соответствии с данными зарубежных авторов особенно важно проводить изучение физиологических характеристик спермы жеребца вне случного сезона [1, 3, 4, 14–15].

Переживаемость замороженно-оттаянной спермы была наибольшей в декабре, что на 0,44% больше, чем в октябре; на 5,12% больше, чем в ноябре; на 7,62% больше ( $P < 0,05$ ), чем в сентябре; на 20,53% больше ( $P < 0,01$ ), чем в январе; на 27,3% больше ( $P < 0,01$ ), чем в феврале; на 52,7% больше ( $P < 0,001$ ), чем в марте; на 137,9% больше ( $P < 0,05$ ), чем в апреле; на 34,12% больше ( $P < 0,001$ ), чем в мае; на 23,5% больше ( $P < 0,001$ ), чем в июне; на 59,7% больше ( $P < 0,001$ ), чем в июле.

Таким образом видим, что переживаемость спермиев после оттаивания в термостате при 37°C менее 3 ч наблюдалась в марте, апреле и июле.

## Выводы

Криорезистентность спермы жеребцов при их интенсивном племенном использовании была наилучшей с сентября по декабрь – в период полового покоя. Наибольшая переживаемость спермиев была в декабре, что на 0,44% больше, чем в октябре; на 5,12% больше, чем в ноябре; на 7,62% ( $P<0,05$ ) больше, чем в сентябре; на 20,53% ( $P<0,01$ ) больше, чем в январе; на 27,3% ( $P<0,01$ ) больше, чем в феврале; на 52,7% ( $P<0,001$ ) больше, чем в марте; на 137,9% ( $P<0,05$ ) больше, чем в апреле; на 34,12% ( $P<0,001$ ) больше, чем в мае; на 23,5% ( $P<0,001$ ) больше, чем в июне; на 59,7% больше ( $P<0,001$ ), чем в июле.

Переживаемость спермиев после оттаивания в термостате при 37°C менее 3 ч наблюдалась в марте, апреле и июле. Наименьшая подвижность спермиев после размораживания наблюдалась в апреле, что на 36,4% меньше ( $P<0,001$ ), чем в июле; на 38,6% меньше ( $P<0,001$ ), чем в мае; на 45,12% ( $P<0,001$ ) меньше, чем в июне; на 50,1% ( $P<0,001$ ) меньше, чем в январе; на 52,6% ( $P<0,001$ ) меньше, чем в феврале; на 43,75% ( $P<0,001$ ) меньше, чем в марте; на 53,8% ( $P<0,001$ ) меньше, чем в сентябре; на 55% ( $P<0,001$ ) меньше, чем в октябре; на 54,4% ( $P<0,001$ ) меньше, чем в ноябре; на 54,1% меньше ( $P<0,001$ ), чем в декабре.

Исходя из полученных данных о подвижности деконсервированных спермодоз, мы вправе ожидать наибольшую оплодотворяющую способность от того генетического материала, который заготовлен с сентября по декабрь.

## Библиографический список

1. *Aurich J.* Efficiency of Semen Cryopreservation in Stallions / J. Aurich, J. Kuhl, A. Tichy, C. Aurich // *Animals*. – 2020. – № 10. – P. 1033 (doi:10.3390/ani10061033).
2. *Corona A.* Characterisation of bacteria in fresh semen of stallions during the breeding season / A. Corona, I. Cossu, A. Bertulu, R. Cherchi // *Animal Reproduction Science*. – 2006. – № 94 (1–4). – Pp. 85–88 (doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.04.022).
3. *Crespo F.* Effect of season on individual stallion semen characteristics / F. Crespo, R. Wilson, M. Díaz-Jimenez C. Consuegra, J. Dorado, B. García Barrado J. Gosálvez, R. Louis Smit M. Hidalgo, S. Johnston // *Anim Reprod Sci*. – 2020. – № 223. – P. 106641 (doi: 10.1016/j.anireprosci.2020.106641).
4. *Crespo F.* Seasonal variations in sperm DNA fragmentation and pregnancy rates obtained after artificial insemination with cooled-stored stallion sperm throughout the breeding season (spring and summer) / F. Crespo, C. Quiñones-Pérez I. Ortiz, M. Diaz-Jimenez C. Consuegra, B. Pereira, J. Dorado, M. Hidalgo // *Theriogenology*. – 2020. – № 148. – Pp. 89–94 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.02.032).
5. *Jasko D.J.* The repeatability and effect of season on seminal characteristics and computer-aided sperm analysis in the stallion / D.J. Jasko, D.H. Lein, R.H. Foote // *Theriogenology*. – 1991. – № 35 (2). – Pp. 317–327.
6. *Kirk E.S.* Comparison of in vitro laboratory analyses with the fertility of cryopreserved stallion spermatozoa / E.S. Kirk, E.L. Squires, J.K. Graham // *Theriogenology*. – 2005. – № 64 (6). – Pp. 1422–1439.
7. *Krakowski L.* Assessment of extent of apoptosis and DNA defragmentation in chilled semen of stallions during the breeding season / L. Krakowski, J. Obara, A. Wąchocka, T. Piech, P. Bartoszek, K. Kostro, M.R. Tataro // *Reproduction in Domestic Animals*. – 2013. – № 48 (5). – Pp. 826–832 (doi: 10.1111/rda.12170).
8. *Ley W.B.* Method of predicting stallion to mare ratio for natural and artificial insemination programs // *Journal of Equine Veterinary Science*. – 1985. – № 5 (3). – Pp. 143–146.

9. *Marti E.* Seasonal variations in antioxidant enzyme activity in ram seminal plasma / E. Marti, L. Mara, J.I. Marti, T. Muiño-Blanco J.A. Cebrián-Pérez // *Theriogenology*. – 2007. – № 67 (9). – Pp. 1446–1454.

10. *Sieme H.* Influence of exogenous GnRH on sexual behavior and frozen/thawed semen viability in stallions during the non-breeding season / H. Sieme, M.H.T. Troedsson S. Weinrich, E. Klug // *Theriogenology*. – 2004. – № 61 (1). – Pp. 159–171.

11. *Ткачев А.В.* Ассоциированность эритроцитарных антигенов с характеристиками спермы жеребцов после криоконсервирования / А.В. Ткачев, О.Л. Ткачева, В.И. Россоха // *Сельскохозяйственная биология*. – 2018. – № 53 (4). – С. 735–742 (doi: 10.15389/agrobiology.2018.4.735rus).

12. *Tkachev A.V.* Effect of Mycotoxins on the Spermatozoa and Embryos of Animals / A.V. Tkachev, O.L. Tkacheva, T.V. Zubova, V.A. Pleshkov, O.V. Smolovskaya // *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. – 2020. – № 8 (s3). – Pp. 47–55 (doi: 10.17582/journal.aavs/2020/8.s3.47.55).

13. *Tkachev A.V.* Cytogenetic status of mares (*Equus caballus*) of Ukrainian riding breed influences their fertility / A.V. Tkachev, O.L. Tkacheva, V.I. Rossokha // *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. – 2018. – № 53 (2). – Pp. 302–308 (doi: 10.15389/agrobiology.2018.2.302eng).

14. *Wach-Gygax L.* Seasonal changes of DNA fragmentation and quality of raw and cold-stored stallion spermatozoa / L. Wach-Gygax D. Burger, E. Malama, H. Bollwein, A. Fleisch, E. Jeannerat, S. Thomas, G. Schuler, F. Janett // *Theriogenology*. – 2017. – № 1 (99). – Pp. 98–104. (doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.05.025).

15. *Wrench N.* Effect of season on fresh and cryopreserved stallion semen / N. Wrench, C.R. Pinto, G.R. Klinefelter, D.J. Dix, W.L. Flowers, C.E. Farin // *Animal Reproduction Science*. – 2010. – № 119 (3–4). – Pp. 219–227 (doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.02.007).

## CRYORESISTANCE OF STALLION SPERM IN DIFFERENT MONTHS OF THE YEAR

A.V. TKACHEV, YU.I. KOROVIN, O.L. TKACHEVA

(Technological College of Russian State Agrarian University –  
Moscow Timiryazev Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev)

*It is known that the seasonality of reproductive function is much more pronounced in mares than in stallions. The mare goes through an anestrus period in autumn and winter, while spermatogenesis in stallions continues throughout the year. Therefore, studies of cryoresistance of stallion sperm in different months of the year are relevant. The aim of the study was to study the cryoresistance of stallion sperm in different months of the year when creating cryopreservation of genetic material with intensive breeding use of sires. The cryoresistance of the sperm of stallions with their intensive breeding use was the best from September to December during sexual rest. The highest incidence of sperm was in December, which is 0.44% more than in October, 5.12% more than in November, 7.62% more ( $P<0.05$ ) than in September, 20.53% more ( $P<0.01$ ) than in January, 27.3% more ( $P<0.01$ ) compared to February, 52.7% more ( $P<0.001$ ) than in March, 137.9% more ( $P<0.05$ ) than in April, 34.12% more ( $P<0.001$ ) than in May, 23.5% more ( $P<0.001$ ) than in June and 59.7% more ( $P<0.001$ ) than in July. The survivability of sperms after thawing in a thermostat at 37°C for less than 3 hours was observed in March, April and July. The lowest sperm motility after defrosting was observed in April, which is 36.4% less ( $P<0.001$ ) than in July, 38.6% less ( $P<0.001$ ) than in May, 45.12% less ( $P<0.001$ ) than in June, 50.1% less ( $P<0.001$ ) than in in January, 52.6% less ( $P<0.001$ ) than in February, 43.75% less ( $P<0.001$ ) than in March, 53.8% less*

( $P < 0.001$ ) than in September, 55% less ( $P < 0.001$ ) than in October, 54.4% less ( $P < 0.001$ ) than in November and 54.1% less ( $P < 0.001$ ) than in December. Based on the data obtained on the mobility of deconserved sperm doses, we may expect the highest fertility from the genetic material that is harvested from September to December.

**Key words:** ejaculate cryoresistance, physiological features, stallion sperm, month of the year.

## References

1. Aurich J., Kuhl J., Tichy A., Aurich C. Efficiency of Semen Cryopreservation in Stallions. *Animals*. 2020; 10: 1033. (DOI:10.3390/ani10061033)
2. Corona A., Cossu I., Bertulu A., Cherchi R. Characterisation of bacteria in fresh semen of stallions during the breeding season. *Animal Reproduction Science*. 2006; 94(1–4): 85–88. (DOI: 10.1016/j.anireprosci.2006.04.022)
3. Crespo F., Wilson R., Díaz-Jimenez M., Consuegra C., Dorado J., García Barrado B., Gosálvez J., Louis Smit R., Hidalgo M., Johnston S. Effect of season on individual stallion semen characteristics. *Anim Reprod Sci*. 2020; 223: 106641. (DOI: 10.1016/j.anireprosci.2020.106641)
4. Crespo F., Quiñones-Pérez C., Ortiz I., Diaz-Jimenez M., Consuegra C., Pereira B., Dorado J., Hidalgo M. Seasonal variations in sperm DNA fragmentation and pregnancy rates obtained after artificial insemination with cooled-stored stallion sperm throughout the breeding season (spring and summer). *Theriogenology*. 2020; 148: 89–94. (DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.02.032)
5. Jasko D.J., Lein D.H., Foote R.H. The repeatability and effect of season on seminal characteristics and computer-aided sperm analysis in the stallion. *Theriogenology*. 1991; 35(2): 317–327.
6. Kirk E.S., Squires E.L., Graham J.K. Comparison of in vitro laboratory analyses with the fertility of cryopreserved stallion spermatozoa. *Theriogenology*. 2005; 64 (6): 1422–1439.
7. Krakowski L., Obara J., Wąchocka A., Piech T., Bartoszek P., Kostro K., Tata-ra M.R. Assessment of extent of apoptosis and DNA defragmentation in chilled semen of stallions during the breeding season. *Reproduction in Domestic Animals*. 2013; 48(5): 826–832. (DOI: 10.1111/rda.12170)
8. Ley W.B. Method of predicting stallion to mare ratio for natural and artificial insemination programs. *Journal of Equine Veterinary Science*. 1985; 5 (3): 143–146.
9. Marti E., Mara L., Marti J.I., Muiño-Blanco T., Cebrián-Pérez J.A. Seasonal variations in antioxidant enzyme activity in ram seminal plasma. *Theriogenology*. 2007; 67 (9): 1446–1454.
10. Sieme H., Troedsson M.H.T., Weinrich S., Klug E. Influence of exogenous GnRH on sexual behavior and frozen/thawed semen viability in stallions during the non-breeding season. *Theriogenology*. 2004; 61(1): 159–171.
11. Tkachev A.V., Tkacheva O.L., Rossokha V.I. Assotsirovannost' eritrotsitarnykh antigenov c kharakteristikami spermy zherebtsov posle kriokonservirovaniya [Associated connection of erythrocytic antigens with characteristics of stallion semen after cryoconservation]. *Sel'skokhozyaystvennaya Biologiya*. 2018; 53(4): 735–742. (DOI: 10.15389/agrobiology.2018.4.735eng) (In Rus.)
12. Tkachev A.V., Tkacheva O.L., Zubova T.V., Pleshkov V.A., Smolovskaya O.V. Effect of Mycotoxins on the Spermatozoa and Embryos of Animals // *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2020; 8(s3): 47–55. (DOI: 10.17582/journal.aavs/2020/8.s3.47.55)



13. *Tkachev A.V., Tkacheva O.L., Rossokha V.I.* Cytogenetic status of mares (*Equus caballus*) of Ukrainian riding breed influences their fertility. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*[AgriculturalBiology].2018;53(2):302–308.(DOI:10.15389/agrobiology.2018.2.302eng)

14. *Wach-Gygax L., Burger D., Malama E., Bollwein H., Fleisch A., Jeannerat E., Thomas S., Schuler G., Janett F.* Seasonal changes of DNA fragmentation and quality of raw and cold-stored stallion spermatozoa. *Theriogenology*. 2017; 1(99): 98–104. (DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.05.025)

15. *Wrench N., Pinto C.R., Klinefelter G.R., Dix D.J., Flowers W.L., Farin C.E.* Effect of season on fresh and cryopreserved stallion semen. *Animal Reproduction Science*. 2010; 119 (3–4): 219–227. (DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.02.007)

**Ткачев Александр Владимирович**, преподаватель, д-р с.-х. наук, старший научный сотрудник, Технологический колледж ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127434, г. Москва, ул. Прянишникова, 14, стр. 6, Россия; e-mail: sasha\_sashaola@mail.ru; тел.: (915) 604–75–10).

**Коровин Юрий Иванович**, директор, канд. техн. наук, профессор, Технологический колледж ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127434, г. Москва, ул. Прянишникова, 14, стр. 6, Россия; e-mail: yura.korovin.61@mail.ru; тел.: (915) 604–75–10).

**Ткачева Ольга Леонидовна**, преподаватель, канд. с.-х. наук, Технологический колледж ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127434, г. Москва, ул. Прянишникова, 14, стр. 6, Россия; e-mail: sasha\_sashaola@mail.ru; тел.: (915) 604–75–10).

**Aleksandr V. Tkachev**, DSc (Ag), Senior Research Associate, Lecturer, Technological College of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (14, building 6, Pryanishnikova Str., Moscow (127434, Russian Federation; phone: (915) 604–75–10; E-mail: sasha\_sashaola@mail.ru).

**Yuriy I. Korovin**, PhD (Eng), Professor, Director of the Technological College of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (14, building 6, Pryanishnikova Str., Moscow (127434, Russian Federation; phone: (915) 604–75–10; E-mail: yura.korovin.61@mail.ru).

**Olga L. Tkacheva**, PhD (Ag), Lecturer, Technological College of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (14, building 6, Pryanishnikova Str., Moscow (127434, Russian Federation; phone: (915) 604–75–10; E-mail: sasha\_sashaola@mail.ru).