

Смирнов Георгий Юрьевич

**ВЛИЯНИЕ ВЫБРОСОВ МЕДЕПЛАВИЛЬНЫХ ЗАВОДОВ
НА КАЧЕСТВО ЭПИДИДИМАЛЬНЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ
МОДЕЛЬНЫХ ВИДОВ ГРЫЗУНОВ**

1.5.15. Экология (биологические науки)

1.5.12. Зоология (биологические науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук

Научный руководитель

Давыдова Юлия Алексеевна,
кандидат биологических наук

Официальные оппоненты:

Осадчук Людмила Владимировна,
доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник сектора прикладных репродуктивных технологий человека Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»;

Новиков Евгений Анатольевич,
доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией структуры и динамики популяций животных Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук

Ведущее учреждение:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук

Защита состоится 25 октября 2022 г. в 14:00 на заседании диссертационного совета Д 004.005.01 при Институте экологии растений и животных УрО РАН, 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202.

Факс: (343) 260-82-56, e-mail: dissovet@ipae.uran.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Института экологии растений и животных УрО РАН, <http://ipae.uran.ru>.

Автореферат разослан 20 августа 2022 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Золотарева Наталья Валерьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Устойчивость популяций млекопитающих к токсической нагрузке во многом определяется эффективностью воспроизводства, поэтому его различные параметры, в том числе показатели репродуктивной системы, всегда привлекали внимание экотоксикологов [Llobet et al., 1995; Мухачева, 2001, 2016; Damek-Poprawa, Sawicka-Kapusta, 2003, 2004; Ieradi et al., 2003; Безель, 2006; Ивантер, Медведев, 2007; Amuno et al., 2016]. Одним из крупнейших источников токсикантов являются крупные промышленные предприятия, особенно заводы с первичной плавкой цветных металлов.

При изучении вклада самцов в воспроизводство популяции рассматривают все звенья мужской репродукции – от морфологии тканей и органов до физиологических и поведенческих реакций. К наиболее важным аспектам изучения воспроизводства относят качество эякулированных и эпидидимальных сперматозоидов, что тождественно оценке потенциальной фертильности. Традиционно тестирование качества сперматозоидов базируется на прямых методах диагностики фертильности – морфологии, подвижности и концентрации, которые в комплексе характеризуют их оплодотворяющую способность. Однако на практике одновременно все три блока показателей обычно исследуют только у человека или хозяйственно значимых видов. У животных из природных популяций исследование всего комплекса затруднено, так как необходимы особые условия для их отлова и содержания, отбора эякулята, его анализа и т.д. При этом подавляющее большинство исследований на мелких грызунах выполняют с использованием эпидидимальных сперматозоидов, которые по оплодотворяющей способности считают эквивалентными эякулированным [Lakoski et al., 1988; Cooper, 2007; Monteiro et al., 2011].

Экотоксикологические аспекты функционирования репродуктивной системы самцов мышевидных грызунов изучены фрагментарно, а устойчивость различных ее параметров к действию экотоксикантов (в том числе тяжелых металлов) до сих пор дискуссионна. Большинство исследователей считают половые клетки самцов чувствительными к загрязнению [Miska-Schramm et al., 2014, 2017], однако до сих пор данные о качестве сперматозоидов грызунов с загрязненных территорий неполны и часто противоречивы: авторы не всегда обнаруживают токсические эффекты, например, уменьшение подвижности и концентрации сперматозоидов, или увеличение доли аномальных клеток [Llobet et al., 1995; Tannenbaum et al., 2003, 2007]. Крайне немногочисленны работы, в которых одновременно исследовали и репродуктивные параметры

(как правило, только структуру семенника), и концентрации тяжелых металлов в организме [Jeradi et al., 2003; Damek-Poprawa, Sawicka-Kapusta, 2004]. К «белым пятнам» можно отнести практически полное отсутствие сведений о связи между индивидуальной токсической нагрузкой и качеством сперматозоидов.

Таким образом, актуальность исследования определяется тремя аспектами: 1) важностью воспроизводства для устойчивости популяций животных; 2) дефицитом данных по показателям морфологии, подвижности и концентрации сперматозоидов у широко распространенных видов грызунов; 3) дискуссионностью вопроса об устойчивости параметров мужской репродуктивной системы грызунов из природных популяций к химическому загрязнению.

Цель исследования – оценка влияния выбросов медеплавильных заводов на качество эпидидимальных сперматозоидов модельных видов грызунов из природных популяций (*Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780, *Clethrionomys rutilus* Pallas, 1779, *Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811).

Задачи исследования:

1) определить морфологические показатели, подвижность и концентрацию сперматозоидов грызунов, населяющих участки с контрастными (фоновыми и импактными) уровнями химического загрязнения от выбросов медеплавильных заводов;

2) оценить межвидовую и внутривидовую (онтогенетическую) изменчивость показателей сперматозоидов;

3) оценить концентрации приоритетных загрязнителей – тяжелых металлов (Cu, Zn, Cd, Pb) – в организме грызунов и охарактеризовать связь качества сперматозоидов с индивидуальной токсической нагрузкой.

В ходе работы проверяли *гипотезы*: 1) химическое загрязнение ухудшает показатели сперматозоидов грызунов из природных популяций; 2) реакция сперматозоидов на химическое загрязнение видоспецифична; 3) реакция сперматозоидов на химическое загрязнение зависит от варианта онтогенеза.

Положения, выносимые на защиту:

1. Выбросы медеплавильных заводов слабо влияют на сперматозоиды *Clethrionomys glareolus*, *Cl. rutilus* и *Sylvaemus uralensis* из природных популяций. Наиболее чувствительны к токсической нагрузке показатели подвижности сперматозоидов. На импактных участках у *Cl. glareolus* показатели морфологии (доля аномальных клеток) и подвижности изменяются односторонне – в сторону ухудшения качества сперматозоидов, что свидетельствует о согласованной реакции половых клеток на загрязнение.

2. Реакция (степень выраженности и направленность изменений) показателей сперматозоидов на выбросы медеплавильных заводов видоспецифична: полевки сильнее реагируют на загрязнение по сравнению с малой лесной мышью.

3. Показатели морфологии, подвижности и концентрации эпидидимальных сперматозоидов *Cl. glareolus*, *Cl. rutilus* и *S. uralensis* не зависят от варианта онтогенеза, потенциальный вклад сеголеток и перезимовавших особей в воспроизводство популяции можно считать равноценным.

Научная новизна. Впервые влияние выбросов медеплавильных заводов (зоны загрязнения и индивидуальной токсической нагрузки) на качество эпидидимальных сперматозоидов грызунов из природных популяций оценено для комплекса показателей – морфологических (размеры клеток, доля аномальных клеток с дефектами головки и хвоста), подвижности (доля подвижных клеток, скорость и прямолинейность движения) и концентрации сперматозоидов.

Впервые количественно оценен вклад межвидовой и онтогенетической изменчивости в вариабельность показателей эпидидимальных сперматозоидов грызунов из окрестностей медеплавильных заводов.

Теоретическая и практическая значимость. Новые сведения о показателях сперматозоидов грызунов из природных популяций существенно дополняют имеющийся пул знаний об особенностях размножения в условиях химического загрязнения. Выводы о влиянии химического загрязнения на потенциальную фертильность грызунов из природных популяций важны для понимания механизмов устойчивости репродуктивных показателей самцов и прогнозирования судьбы популяций в условиях токсических нагрузок.

Выводы об отсутствии влияния варианта онтогенеза на большинство изученных показателей позволяют исключить из анализа этот источник изменчивости и сконцентрировать внимание на анализе изменчивости, связанной со стадиями полового развития (созреванием, зрелостью, угасанием половой функции). Информация об изменчивости эпидидимальных сперматозоидов позволяет оптимизировать протоколы анализа и исключать малоинформативные показатели. Апробированные для разных видов грызунов протоколы комплексного обследования сперматозоидов могут стать основой для разработки универсальной схемы с возможностью ее использования широким кругом специалистов в области экотоксикологии, популяционной экологии и зоологии.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов определяется значительном объемом фактического материала: проанализировано 570 особей модельных видов грызунов, отловленных в ходе

5 полевых сезонов (отработано 5099 ловушко-суток), в анализ включено 307 мазковых препаратов эпидидимальных сперматозоидов, 141 определение показателей подвижности и концентрации сперматозоидов на автоматическом анализаторе спермы, выполнено более 1000 элементо-определений тяжелых металлов. Все лабораторные работы выполнены на современном аттестованном оборудовании. Достоверность результатов также обусловлена применением современных методов статистического анализа.

Результаты исследований были представлены на 11 конференциях: ежегодные Всероссийские конференции молодых ученых «Экология: факты, гипотезы, модели» (Екатеринбург, 2017, 2018, 2019, 2021, 2022 гг.); Всероссийская научная конференция «Токсикология и радиобиология XXI века» (Санкт-Петербург, 2017); Международная научно-практическая конференция, посвященная 90-летию Заслуженного эколога России Н.И. Литвинова «Итоги и перспективы развития териологических исследований азиатской России и сопредельных территорий» (Иркутск, 2017); XV Всероссийская Молодежная научная конференция «Физиология человека и животных: от эксперимента к клинической практике» в рамках III Всероссийской молодежной научной конференции «Молодежь и наука на Севере» (Сыктывкар, 2018); XV Конгресс Международной ассоциации морфологов (Ханты-Мансийск, 2020), Межрегиональная конференция «Научные исследования на ООПТ Урала», посвященная 50-летию Висимского государственного природного биосферного заповедника (Екатеринбург, 2021); XI Съезд Териологического общества при РАН «Млекопитающие в меняющемся мире: актуальные проблемы териологии» (Москва, 2022).

Исследование выполнено в рамках тем НИР лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ ИЭРиЖ УрО РАН. В 2019–2021 гг. работа была поддержана РФФИ (проект № 19-34-90004 «Аспиранты»).

Личный вклад автора. Автор участвовал в разработке общего плана исследования и ряда протоколов анализов, в частности протоколов по отбору образцов эпидидимальных сперматозоидов, классификации аномальных клеток, композиции питательной среды для анализа подвижности сперматозоидов. Подавляющий объем полевой и камеральной работы был организован и выполнен лично автором или при его непосредственном участии, включая отлов животных, отбор и анализ биологических образцов, определение абсолютного возраста животных, измерение морфометрических показателей сперматозоидов, измерение их концентрации и подвижности, пробоподготовку образцов для химического анализа. Анализ данных и обобщение результатов выполнены автором при консультациях с научным руководителем.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 5 статей в журналах из Перечня ВАК, в том числе 4 публикации в изданиях, индексируемых в WoS и Scopus.

Структура работы. Диссертация состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 175 страницах и содержит 22 таблицы и 23 рисунка. Список литературы включает 352 источника, из них 225 – на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает благодарность своему научному руководителю – к.б.н. Ю.А. Давыдовой за помощь на всех этапах работы, д.б.н. Е.Л. Воробейчику – за обсуждение результатов работы, к.б.н. И.А. Кшнясеvu и к.б.н. А.Н. Созонтову – за консультации по статистической обработке данных, ведущему инженеру Э.Х. Ахуновой – за определение концентраций тяжелых металлов. Автор чрезвычайно признателен к.б.н. С.В. Мухачевой, к.б.н. А.Н. Созонтову, Т.Н. Орехову, а также администрации и сотрудникам Висимского государственного биосферного заповедника за помощь в сборе материала.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА СПЕРМАТОЗОИДЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В первой части главы сперматозоиды млекопитающих рассматриваются как объект экотоксикологии – науки, изучающей реакцию живых организмов на химическое загрязнение среды [Безель, 2006]. Подчеркивается ключевая роль воспроизводства в выживании популяции/вида в неблагоприятных условиях, обсуждается репродуктивный «вклад» самцов. Выполнен обзор экотоксикологических исследований сперматозоидов животных из природных популяций.

Во второй части сперматозоиды рассматриваются с позиций сперматологии, изучающей анизогамные мужские гаметы, а также эволюционных и экологических концепций [Boorman, Parker, 1976; Рузен-Ранге, 1980]. Приведен обзор современных методов изучения фертильности самцов, подробно рассмотрены достоинства и недостатки используемого в работе автоматического анализа сперматозоидов (CASA) [Amann, Katz, 2004; Yeste et al., 2018].

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Районы исследования. Исследования проводили в окрестностях двух крупнейших на Среднем Урале медеплавильных заводов: СУМЗ (Среднеураль-

ский медеплавильный комбинат, г. Ревда) и КМК (Кировградский медеплавильный комбинат, г. Кировград). Предприятия обладают рядом сходных черт, например, сопоставимым объемом выбросов и спектром приоритетных токсикантов, что позволяет проводить корректные сравнения эффектов загрязнения. Участки отловов животных располагали в двух контрастных по уровню загрязнения зонах химического градиента – фоновой (Bg, в 30–40 км от заводов) и импактной (Im, в 2–6 км). Работы проведены в пихтово-еловых и смешанных лесах, сильно изменяющихся с приближением к заводу (угнетение древесного яруса, уменьшение видового богатства и обилия травяно-кустарничкового яруса).

Характеристика модельных видов грызунов. Для исследования выбраны три вида грызунов, широко распространенных на Среднем Урале. Два вида относятся к семейству Cricetidae: рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780) и красная полевка (*Clethrionomys rutilus* Pallas, 1779); один вид – к семейству Muridae: малая лесная мышь (*Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811). Виды различаются по типу питания, предпочитаемым местообитаниям, подвижности. Кроме того, рыжая и красная полевки – близкородственные виды, образующие гибриды в эксперименте [Осипова, Соктин, 2006, 2008] и в природе [Абрамсон и др., 2009; Бородин и др., 2011]. Для анализа межвидовой изменчивости морфологии сперматозоидов дополнительно рассмотрены *Lasiopodomys gregalis* Pallas, 1779; *Alexandromys oeconomus* Pallas, 1776; *Microtus agrestis* Linnaeus, 1761 (Cricetidae); *Apodemus agrarius* Pallas, 1771 (Muridae).

Отлов, содержание и обследование грызунов. Систематические отловы в районах СУМЗ и КМК проводили в 2018–2021 гг. с мая по август. Для учета мелких млекопитающих использовали метод ловушко-линий – на каждом участке размещали по две–три линии деревянных трапиковых живоловок (по 20–30 шт. каждая) на расстоянии 5–10 м друг от друга. Пойманных грызунов содержали 1–3 дня в условиях лаборатории при естественном освещении и комнатной температуре, затем умерщвляли цервикальной дислокацией. У самцов измеряли массу тела, семенников и придатков (эпидидимисы, семенные пузырьки, препуциальная и предстательная железы) (ТАНИТА, Japan). Для морфофизиологического анализа использовали среднее значение массы у парных органов и различные индексы (отношение массы органа к массе тела).

Для оценки уровня межвидовой конкуренции рассчитывали «индекс конкурентности» – отношение массы семенника к его прогнозируемой массе [Kenagy, Trombulak, 1986].

Численность и структура популяций модельных видов. Выборки частично отражали состояние населения мелких млекопитающих в окрестностях СУМЗ и КМК в период исследования. На участках с разным уровнем загрязнения численность грызунов различалась. На фоновых участках она была выше в 1.6–1.7 раза по сравнению с импактными и составляла: для СУМЗ – 13.5 и 7.9 ос./100 лов.-сут., для КМК – 17.3 и 10.6 ос./100 лов.-сут., соответственно. Межгодовые различия численности грызунов позволили выделить годы с низкой (2018, 2021 гг., 3 (1–6) ос./100 лов.-сут.), средней (2019 г., 13 (6–22) ос./100 лов.-сут.) и высокой численностью (2020 г., 16 (9–28) ос./100 лов.-сут.) и отнести их к фазам «депрессии», «роста» и «пика» популяционного цикла [Кшнясев, Давыдова, 2021; Мухачева, Созонтов, 2021; Лукьянова, 2021]. Небольшое число лет наблюдений и отсутствие повторности фаз цикла не позволило оценить межгодовую изменчивость репродуктивных характеристик.

Формирование анализируемых выборок проводили в соответствии с функционально-онтогенетическим подходом, предложенным Г.В. Оленевым (2002). Половозрелых самцов по комплексу признаков (масса и размер тела, наличие тимуса, состояние половых желез) дифференцировали на две популяционные группы – половозрелых сеголеток (m) и перезимовавших особей (ow). Половозрелость определяли по степени развитости (массе и размерам) семенников и придаточных желез и наличию сперматозоидов в эпидидимисе. Для верификации определения группы оценивали абсолютный возраст особей по возрастным изменениям зубов [Оленев, 1989, 2009; Колчева, 1992]. Во всех случаях анализировали половозрелых самцов без видимых признаков инволюции семенников и придаточных желез. Исключение – анализ онтогенетической изменчивости морфологических показателей сперматозоидов, в котором учитывали группу самцов с инволюцией половых желез (m/i).

Морфофизиологические характеристики самцов различаются у разных популяционных групп и у разных видов. Например, масса семенника у рыжей полевки была больше, чем у красной: у половозрелых сеголеток в 1.8 (индекс семенника – в 2.3) раза, у перезимовавших особей – в 1.7 (индекс семенника – в 1.9) раза. Таксономические различия обычно связывают с разными репродуктивно-экологическими стратегиями видов/таксонов [Амбарян и др., 2015; Lüpold et al., 2020]. Все виды имели высокий уровень меж- и внутривидовой конкуренции, однако индекс конкурентности у *Cl. glareolus* был выше по сравнению с *Cl. rutilus* в 2 раза, *S. uralensis* – в 1.6 раза.

Анализ морфологических показателей сперматозоидов. Из содержимого хвостовой части правого эпидидимиса готовили препараты: суспензию

неокрашенных клеток наносили на предметное стекло и делали мазок (в 2–3 повторностях), который затем фиксировали в 96%-ном спирте. Клетки фотографировали с помощью микроскопа Leica DM1000 LED и цифровой камеры Leica DFC 295 (Leica Microsystems, Germany) при увеличении $\times 400$ для анализа патологий и $\times 630$ для морфометрии у полевок, и при увеличении $\times 200$ и $\times 400$ – у малой лесной мыши.

У сперматозоида измеряли: длину головки (HL) – максимальное расстояние от вершины акросомы до основания головки; ширину головки (HW) – максимальное расстояние от вентральной до дорсальной поверхности головки; длину средней части хвоста (MP) – расстояние от основания головки до начала основной части хвоста; длину основной и конечной частей хвоста (PEP) – расстояние от начала основной части до кончика хвоста. Измерения проводили для нормальных сперматозоидов. У каждого животного измеряли по 30 клеток, выбранных случайным образом.

Различали три группы клеток: нормальные (без деформаций структурных элементов клеток), с дефектом головки (включая деформацию акросомы), с дефектом хвоста (различные варианты петель и шпилек). У каждого животного исследовали по 200 сперматозоидов: в 15–30 случайных полях зрения определяли долю нормальных и аномальных клеток.

Для исследования различных аспектов морфологии сперматозоидов использовали выборки грызунов, отловленных в разные годы и в разных локалитетах. Влияние химического загрязнения на встречаемость аномальных сперматозоидов оценили у животных из основной выборки ($n = 141$) (Таблица 1).

Таблица 1 – Объем и структура основной выборки модельных видов грызунов для оценки морфологии (встречаемость аномальных клеток) (2018–2020 гг.)

Район	Зона загрязнения	<i>Cl. glareolus</i> , $n = 71$		<i>Cl. rutilus</i> , $n = 52$		<i>S. uralensis</i> , $n = 18$	
		m	ow	m	ow	m	ow
СУМЗ	Фоновая	0	24	1	1	2	2
	Импактная	8	11	16	9	4	2
КМК	Фоновая	7	12	6	6	1	3
	Импактная	5	4	6	7	2	2

Для этой же выборки оценено влияние индивидуальной токсической нагрузки (концентрации тяжелых металлов в печени) на показатели сперматозоидов и выполнен комплексный анализ морфологических показателей, подвижности и концентрации сперматозоидов.

Анализ подвижности сперматозоидов проводили с помощью системы CEROS CASA: программы MouseTraxx v. 12.3 (Hamilton Thorne, USA), микроскопа (Olympus CX41, Japan) и видеокamеры (Sony XC-ST50, Japan). В хвостовой части правого эпидидимиса делали прокол, с помощью пипетки-дозатора отбирали 0.5 мкл эпидидимата и помещали в питательную среду объемом 2 мл на 10–15 мин. В качестве питательной среды использовали смесь растворов DMEM с L-глутамином и глюкозой 4.5 г/л и 2 % BSA (bovine serum albumin). Готовой суспензией заполняли обе камеры (по 10 мкл суспензии на камеру) предметных стекол (2X-CEL chamber, глубина камеры 80 мкм) и закрепляли на нагревателе предметных стекол (MiniTherm) под объективом микроскопа.

Исследовали: Motile – долю подвижных клеток, VCL (мкм/с) – скорость движения клетки по кривой отснятого трека, VSL (мкм/с) – скорость движения клетки по прямой от начала до конца трека, VAP (мкм/с) – скорость движения клетки по усредненной траектории, ALH (мкм) – амплитуда отклонения головки сперматозоида от усредненной траектории, BCF (Гц) – частоту колебаний головки сперматозоида в секунду, STR (%) – прямолинейность усредненной траектории, LIN (%) – прямолинейность кривой отснятого трека.

Анализ концентрации сперматозоидов. Значения концентрации сперматозоидов в образцах получали с помощью CASA одновременно со значениями их подвижности. Приборное определение показателей концентрации контролировали с помощью счетной камеры MMC-SR (MMCSoft, Россия).

Измерение концентраций металлов в организме. Для оценки влияния индивидуальной токсической нагрузки на показатели сперматозоидов определяли концентрации приоритетных (по содержанию в выбросах) токсикантов (Cu, Zn, Cd, Pb) в печени. Выбор печени определялся известным фактом преимущественного депонирования в ней токсикантов [Mammals and birds ..., 2019; Ostoich, 2020]. Концентрации тяжелых металлов (мкг/г сухой массы) измеряли на атомно-абсорбционном спектрометре ContrAA 700 vario (Analytik Jena, Germany) с использованием пламенного (для Cu и Zn) и электротермического (для Cd и Pb) вариантов атомизации.

Уровни индивидуальной токсической нагрузки и влияние на них разных факторов оценивали в основной (Таблица 1) и расширенной выборке, состоящей из половозрелых самцов и самок, отловленных в 2017–2020 гг. в районах СУМЗ и КМК ($n = 243$).

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 8 [StatSoft, 2007] и среды программирования R (R-project, v. 4.1.1, IDE RStudio v. 1.4.1717) [R Core Team, 2021], а также пакета

ggplot2 для визуализации [Wickham, 2016]. Во всех анализах, кроме иерархических моделей дисперсионного анализа, статистической единицей была особь. Нормальность распределения показателей проверяли с помощью теста Шапиро-Уилка. Значения концентраций тяжелых металлов логарифмировали.

Связь между показателями оценивали с помощью коэффициентов корреляции Пирсона (r) и Спирмена (R), межвидовые различия показателей – с помощью дискриминантного анализа. Для расчета доверительных интервалов (ДИ) коэффициента вариации (CV) морфометрических параметров использовали бустреп-доверительные интервалы, рассчитанные в пакете `svsqv` v. 1.0.0 с 999 повторениями [Beigy, 2019].

Вклад тестируемых факторов в общую изменчивость морфометрических показателей оценивали с помощью иерархических моделей дисперсионного анализа (Nested ANOVA), где статистической единицей была клетка. Для оценки влияния факторов (район, зона загрязнения, вид, популяционная группа) на показатели использовали t -критерий Стьюдента, F -критерий Фишера для проверки равенства дисперсий, одно- и многофакторный дисперсионный анализ, обобщенные линейные модели (GLM) для непрерывных и дихотомических признаков (линейная и логит-регрессия) [Дрейпер, Смит, 2017].

Отношения шансов (OR) и их 95%-ные ДИ приводили после потенцирования коэффициентов логит-регрессии – логарифмов отношения шансов ($\exp(\ln OR)$ или $1/\exp(\ln OR)$). Ключевые показатели подвижности сперматозоидов выбирали с помощью анализа главных компонент (PCA). Множественные сравнения выполняли с помощью критерия Тьюки. Для комплексного анализа значения показателей, измеряемых в мультипликативной шкале (доли аномальных и подвижных клеток) преобразовывали в аддитивную шкалу – логарифм шансов (LO – Log Odds или логит – logit).

Глава 3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМАТОЗОИДОВ

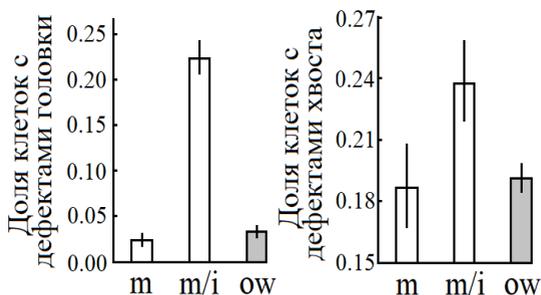
Естественная изменчивость. На примере семи доминирующих в лесах Урала видов мышевидных грызунов (166 особей) оценена *меж- и внутривидовая изменчивость* морфометрических показателей нормальных сперматозоидов. Основной вклад в изменчивость размерных признаков ожидаемо вносил вид животного. Доля изменчивости, связанной с принадлежностью к разным популяционным группам, оказалась незначительной (в 5–10 раз меньше индивидуальной и в 15–20 раз меньше межвидовой изменчивости), поэтому в популяционных исследованиях репродукции самцов ею можно пренебречь. Вклад индивидуальной изменчивости размерных показателей сперматозоидов в об-

щую изменчивость был существенным, поэтому ее необходимо учитывать при формировании выборок и анализе данных.

Для *Cl. glareolus* с фоновых территорий ($n = 72$) оценена онтогенетическая изменчивость морфологических показателей сперматозоидов. Исследовали два аспекта изменчивости. Первый обусловлен бивариантным развитием, характерным для мышевидных грызунов бореальной зоны: одна часть популяции созревает в год рождения (I вариант онтогенеза, 3–6 мес.), другая – на следующий год после зимовки (II вариант, 12–15 мес.). Бивариантный онтогенез обеспечивает перераспределение репродуктивных усилий в жизненном цикле особей и детерминирует различия многих признаков животных, в том числе репродуктивных [Оленев, 2002, 2009; Новиков, Мошкин, 2009]. Второй аспект связан со стадиями полового развития животных (неполовозрелость, созревание, половозрелость, угасание половой функции) и не зависит от варианта онтогенеза.

Морфометрические показатели сперматозоидов у разных групп (m, m/i, ow) не различались: $p = 0.17 - 0.99$ для HL, HW, MP, PER. В то же время доля аномальных сперматозоидов различалась между тремя группами (m, m/i, ow): для дефектов головки $\chi^2(2) = 807.5$; $p < 0.0001$, для дефектов хвоста $\chi^2(2) = 22.8$; $p < 0.0001$.

Минимальная частота встречаемости аномальных сперматозоидов обнаружена у сеголеток (m) (Рисунок 1). Доля клеток с дефектами головки у половозрелых сеголеток оказалась в 4.7 (95 % ДИ: 4.1–5.4) раза ниже по сравнению с сеголетками с инволюцией семенника ($\chi^2(1) = 446.4$; $p < 0.0001$) и в 1.7 (1.5–2.0) раза – с перезимовавшими особями ($\chi^2(1) = 59.4$; $p < 0.0001$).



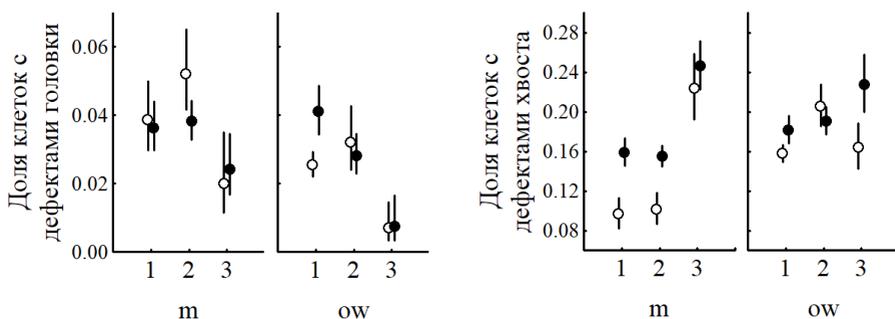
m – половозрелые сеголетки, m/i – сеголетки с инволюцией семенников, ow – перезимовавшие особи; разная заливка обозначает разные онтогенетические траектории: белая – I вариант онтогенеза, серая – II вариант онтогенеза

Рисунок 1 – Частота встречаемости аномальных сперматозоидов (среднее, ДИ) у *Cl. glareolus* разных популяционных групп

Доля сперматозоидов с дефектами хвоста у половозрелых сеголеток была ниже в 1.2 (1.1–1.3) раза, чем у сеголеток с инволюцией семенника ($\chi^2(1) = 20.0$; $p < 0.0001$) и в 1.1 (1.0–1.2) раза, чем у перезимовавших особей ($\chi^2(1) = 6.2$; $p < 0.01$).

Влияние химического загрязнения. Вклад загрязнения в изменчивость морфометрических показателей исследовали на примере *Cl. glareolus* ($n = 55$) из района СУМЗ. Размеры клеток на фоновых и импактных участках не различались: $|t| = 0.2 - 1.3$, $p = 0.20 - 0.85$ для HL, HW, MP, PER.

Факторы (район, зона загрязнения, вид, популяционная группа) по-разному влияли на частоту патологий сперматозоидов грызунов из основной выборки (Рисунок 2).



1 – *Cl. glareolus*, 2 – *Cl. rutilus*, 3 – *S. uralensis*; белый маркер – фоновые участки, черный маркер – импактные

Рисунок 2 – Встречаемость аномальных сперматозоидов (среднее, ДИ) у грызунов с фоновых и импактных участков

Большинство обнаруженных эффектов оказались слабыми, т.е. вероятность обнаружения аномальных сперматозоидов в связи с тем или иным фактором невысока (отношение шансов близко к единице). Полученные результаты согласуются с опубликованными нами ранее для других выборок грызунов с фоновых и импактных участков обоих районов [Смирнов, 2017, 2020; Смирнов, Давыдова, 2018, 2020]. Дефекты головки и хвоста сперматозоидов ни у одного из видов не связаны между собой: $|R| = 0.02 - 0.27$, $p = 0.06 - 0.88$, что свидетельствует в пользу мнения о различных причинах их возникновения [Pesch, Bergmann, 2006].

Глава 4. ПОДВИЖНОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Естественная изменчивость. Показатели подвижности сперматозоидов оказались видоспецифичны, причем значения большинства из них у малой лес-

ной мыши были ниже, чем у полевок (Таблица 2). В главе приведено сравнение собственных и опубликованных результатов, рассмотрены возможные причины межвидовых различий, в том числе, связанные с уровнем конкуренции сперматозоидов [Tourmente et al., 2016].

Таблица 2 – Показатели подвижности сперматозоидов грызунов (сеголетки и перезимовавшие особи) с фоновых территорий

Показатель	<i>Cl. glareolus</i> , n = 43	<i>Cl. rutilus</i> , n = 14	<i>S. uralensis</i> , n = 8
Motile, %	59.7 ± 1.35 ^B (40.6 – 74.4)	53.4 ± 2.84 ^B (36.0 – 70.9)	44.2 ± 5.91 ^{B, B} (10.5 – 49.9)
VCL, мкм/с	251.2 ± 4.88 ^{A, B} (183.2 – 345.5)	223.6 ± 6.23 ^A (185.1 – 267.7)	209.7 ± 11.35 ^B (175 – 280.6)
VSL, мкм/с	198.5 ± 3.62 ^{A, B} (145.2 – 245.6)	173.3 ± 6.82 ^{A, B} (147.4 – 230.0)	123.4 ± 18.72 ^{B, B} (48.5 – 233.8)
VAP, мкм/с	216.6 ± 3.89 ^{A, B} (153.5 – 264.4)	188.7 ± 6.62 ^{A, B} (156.9 – 244.2)	136.9 ± 17.43 ^{B, B} (81.2 – 244.7)
ALH, мкм	9.12 ± 0.27 (6.88 – 12.96)	9.0 ± 0.53 (6.23 – 13.4)	8.9 ± 0.64 (7.2 – 13.1)
BCF, Гц	35.5 ± 0.48 ^{A, B} (28.9 – 41.9)	38.9 ± 0.92 ^A (29.5 – 46.4)	38.7 ± 1.19 ^B (31.9 – 42.5)
STR, %	91.1 ± 0.43 ^B (83.3 – 96.3)	91.3 ± 0.93 (83.2 – 96.5)	86.6 ± 3.84 ^B (60.3 – 94.6)
LIN, %	79.0 ± 0.69 ^B (68.0 – 87.0)	78.1 ± 1.73 ^B (65.9 – 86.2)	58.6 ± 5.9 ^{B, B} (24.7 – 82.6)

Примечание – приведены среднее ± ошибка среднего, минимальные и максимальные значения показателей. Приведены различия (тест Тьюки, $p < 0.05$) между: А – *Cl. glareolus* и *Cl. rutilus*, Б – *Cl. glareolus* и *S. uralensis*, В – *Cl. rutilus* и *S. uralensis*

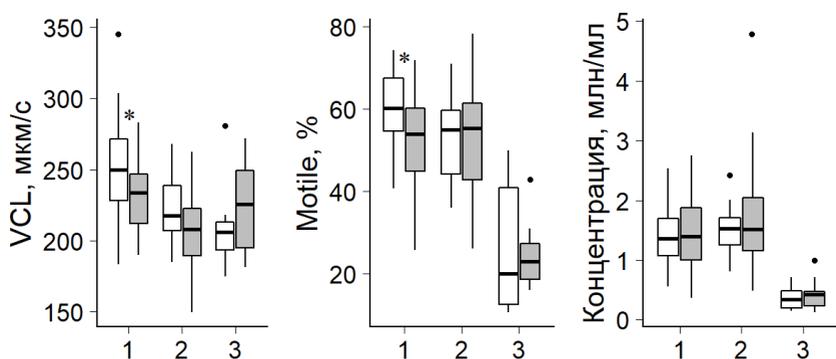
Для дальнейшего анализа с помощью PCA выбрали два хорошо интерпретируемых показателя с высокими факторными нагрузками, не коррелирующие между собой – VCL (PC 1) и STR (PC 2). Также анализировали долю подвижных клеток (Motile).

Показатели подвижности сперматозоидов грызунов не зависели от фактора «группа»: для *Cl. glareolus* $|t| = 0.82 - 1.65$, $p = 0.103 - 0.417$; для *Cl. rutilus* $|t| = 0.47 - 1.30$, $p = 0.200 - 0.637$; для *S. uralensis* $|t| = 0.13 - 1.70$, $p = 0.108 - 0.900$. Для анализа подвижности (как и для морфологических показателей нор-

мальных сперматозоидов) не важно, на какой стадии зрелости/старения находятся животные и когда они достигают половозрелости; показатели подвижности следует считать дефинитивными характеристиками половозрелых особей.

Фактор «район» также не влиял на показатели подвижности сперматозоидов (для *Cl. glareolus* $|t| = 0.31 - 1.27$, $p = 0.209 - 0.756$; для *Cl. rutilus* $|t| = 0.32 - 0.56$, $p = 0.575 - 0.752$; для *S. uralensis* $|t| = 0.61 - 1.58$, $p = 0.133 - 0.548$), поэтому животных разных групп и из разных районов для дальнейшего анализа объединили.

Влияние химического загрязнения на Motile и VCL у *Cl. glareolus* оказалось значимым: на импактных участках доля подвижных клеток и их скорость оказались ниже, чем на фоновых ($t_{\text{Motile}} = -2.60$, $p = 0.011$; $t_{\text{VCL}} = -2.43$, $p = 0.018$) (Рисунок 3).



1 – *Cl. glareolus*, 2 – *Cl. rutilus*, 3 – *S. uralensis*; фоновые участки – без заливки, импактные участки – серая заливка; горизонтальная черта – медиана, границы ящика – межквартильный размах, усы – минимальное и максимальное значения, не превышающие 1.5 межквартильных размаха, точка – выброс; * – различия при $p < 0.05$

Рисунок 3 – Доля подвижных клеток (Motile, %), скорость движения сперматозоидов по кривой (VCL, мкм/с) и концентрация сперматозоидов (млн/мл) у грызунов с фоновых и импактных участков

Однако фактор «зона загрязнения» объяснял только 9 % общей дисперсии для Motile и 8 % – для VCL. У *Cl. rutilus* и *S. uralensis* оба показателя не различались между зонами: для *Cl. rutilus* $t_{\text{Motile}} = -0.21$, $p = 0.837$; $t_{\text{VCL}} = -1.87$, $p = 0.067$), для *S. uralensis* $t_{\text{Motile}} = -0.29$, $p = 0.772$; $t_{\text{VCL}} = 0.92$, $p = 0.373$.

Показатель направленности движения (STR) сперматозоидов у всех видов не различался между зонами: для *Cl. glareolus* $t = 0.60$, $p = 0.548$, для *Cl. rutilus* $t = -0.76$, $p = 0.451$, для *S. uralensis* $t = 1.21$, $p = 0.242$.

У *Cl. glareolus* на импактных участках была выше изменчивость показателя Motile ($CV_{Bg} = 14.85$; $CV_{Im} = 25.18$; $F_{Motile} = 2.26$, $p = 0.017$), только здесь встречались особи с крайне низкими показателями подвижности сперматозоидов (Рисунок 3).

У *S. uralensis*, наоборот, изменчивость показателя Motile оказалась выше у животных на фоновых участках: $CV_{Bg} = 63.81$; $CV_{Im} = 32.81$, $F_{Motile} = 4.34$, $p = 0.045$.

Глава 5. КОНЦЕНТРАЦИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ

В главе приведены референтные значения концентрации сперматозоидов грызунов в растворе DMEM, эпидидимате и эпидидимисе (аналоге $\frac{1}{2}$ эпидидимального резерва). Для дальнейших расчетов использовали значения концентрации клеток в 1 мл DMEM, поскольку именно в этом объеме питательной среды определяли показатели подвижности клеток. Рассмотрены разные способы определения концентраций сперматозоидов у грызунов, приведены достоинства и недостатки предложенного нами метода одновременного отбора сперматозоидов для анализа подвижности и концентрации, но не позволяющего точно оценить общий запас клеток в хвостовой части эпидидимисов [Осадчук, Клещёв, 2016].

Естественная изменчивость. Показатели концентрации эпидидимальных сперматозоидов грызунов (как и показатели подвижности) не зависели ни от популяционной группы, ни от района отловов: для *Cl. glareolus* $t_{группа} = 0.56$, $p = 0.579$, $t_{район} = -0.25$, $p = 0.803$; для *Cl. rutilus* $t_{группа} = -0.40$, $p = 0.694$, $t_{район} = -1.17$, $p = 0.246$; для *S. uralensis* $t_{группа} = 0.55$, $p = 0.592$, $t_{район} = 1.24$, $p = 0.232$.

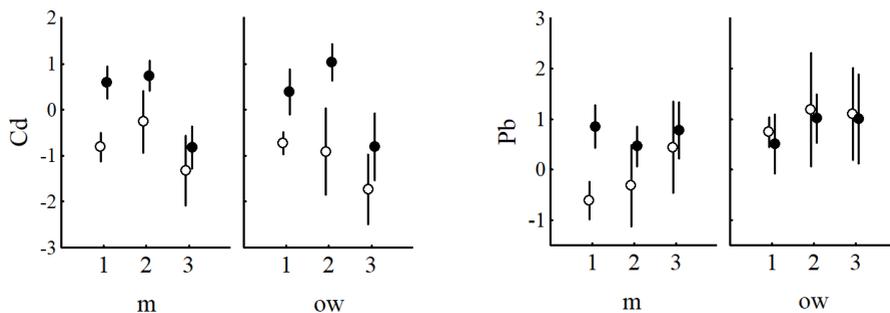
Влияние химического загрязнения на концентрацию сперматозоидов также оказалось незначимым: для *Cl. glareolus* $t = 0.37$, $p = 0.711$; для *Cl. rutilus* $t = 0.68$, $p = 0.497$; для *S. uralensis* $t = 0.48$, $p = 0.638$. У *Cl. rutilus* изменчивость показателей концентрации на импактных участках была выше, чем на фоновых: $CV_{Bg} = 30.03$, $CV_{Im} = 49.83$; $F = 3.37$, $p = 0.022$ (Рисунок 3), самые низкие значения показателей концентрации сперматозоидов встречались у особей на импактных участках.

Глава 6. ВЛИЯНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ТОКСИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА СПЕРМАТОЗОИДЫ

Факторы накопления тяжелых металлов грызунами. По материалам расширенной выборки грызуны накапливали в печени больше Cd в районе СУМЗ, Zn и Pb – в районе КМК. На импактных участках концентрации Cu и Cd были выше по сравнению с фоновыми, у полевок концентрации Zn и Cd были

выше, чем у *S. uralensis*, у перезимовавших концентрация Pb выше, чем у сеголеток (Рисунок 4).

Наши данные в целом подтверждают известные закономерности накопления тяжелых металлов у мелких млекопитающих: 1) животные с загрязненных территорий накапливают больше токсикантов по сравнению с животными с фоновых территорий [Levengood, Heske, 2008; Tête et al., 2014]; 2) накопление токсикантов связано с возрастом: их концентрации у взрослых животных выше, чем у молодых [Rogival et al., 2007; Sánchez-Chardi et al., 2009]; 3) накопление токсикантов видоспецифично. Более низкие уровни концентраций элементов у Muridae по сравнению с Cricetidae объясняют особенностями их биологии – преимущественным питанием семенами, наименее накапливающих металлы, большей подвижностью и др. [Heske et al., 2003; Schipper et al., 2008]. Различия в накоплении Zn, Cd и Pb грызунами из разных районов могут быть объяснены особенностями технологических циклов производства, систем фильтрации, состава обрабатываемого сырья и т.д. [Воробейчик и др., 2006].



1 – *Cl. glareolus*, 2 – *Cl. rutilus*, 3 – *S. uralensis*; белый маркер – фоновые участки, черный маркер – импактные; m – половозрелые сеголетки, ow – перезимовавшие особи

Рисунок 4 – Концентрации (мкг/г) Cd и Pb в печени (логарифмированные значения: среднее, ДИ) у грызунов с фоновых и импактных участков

Связь показателей сперматозоидов с индивидуальной токсической нагрузкой. Результаты для основной выборки были сходными. На накопление Cd, наиболее гепатотоксичного элемента, влияли факторы «район» – возле СУМЗ грызуны накапливали этого элемента больше ($F(1, 129) = 12.18$, $p = 0.0066$), «зона загрязнения» – на импактных участках животные накапливали больше, чем на фоновых ($F(1, 129) = 57.7$, $p < 0.0001$), «вид» – полевки накапливали больше, чем малая лесная мышь ($Cl. rutilus > Cl. glareolus >$

S. uralensis, $F(2, 129) = 8.2$, $p < 0.0001$). Но влияние варианта онтогенеза на накопление Cd оказалось незначимым ($F(1, 129) = 2.8$, $p = 0.096$).

Только у *Cl. glareolus* обнаружили слабую отрицательную связь между концентрацией токсичных элементов и подвижностью сперматозоидов: с увеличением концентрации Cd уменьшались значения скоростных характеристик подвижности VCL, VSL, VAP ($r = -0.25 - -0.31$, $p < 0.05$), с увеличением концентрации Pb уменьшалась степень прямолинейности движения LIN ($r = -0.30$, $p < 0.05$), частота колебания головки BCF ($r = -0.39$, $p < 0.05$) и увеличивалась амплитуда движения головки ALH ($r = 0.30$, $p < 0.05$). Концентрация Pb отрицательно коррелировала и с долей сперматозоидов с дефектами головки ($r = -0.24$, $p < 0.05$).

У *Cl. rutilus* обнаружили слабую отрицательную связь ($r = -0.36 - -0.39$, $p < 0.05$) между концентрацией Cu и подвижностью сперматозоидов (VCL, VSL, VAP). У *S. uralensis* корреляции между концентрациями металлов и показателями сперматозоидов не обнаружили.

Глава 7. СВЯЗИ МЕЖДУ МОРФОЛОГИЕЙ, ПОДВИЖНОСТЬЮ И КОНЦЕНТРАЦИЕЙ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Выполнен дискриминантный анализ для оценки межвидовых различий по комплексу изученных показателей сперматозоидов и анализ степени согласованности изменений между показателями. Для этого оценили структуру связей между факторами и качеством сперматозоидов, а также вклад разных показателей сперматозоидов в межвидовые различия грызунов. Связи анализировали между наиболее информативными показателями, выбранными по результатам PCA.

Исследованные виды существенно различались по показателям подвижности (VCL, STR, Motile) и концентрации сперматозоидов, но морфологические показатели (доля клеток с дефектами головки и хвоста) оказались незначимыми для их дифференциации. Максимальные различия сперматозоидов ожидаемо были между полевыми и малой лесной мышью, минимальные – между видами полевок.

Некоторые из показателей были одинаково связаны у разных видов, например, у обоих видов полевок доля подвижных клеток (Motile) положительно связана со скоростью движения (VCL, $r = 0.3 - 0.4$), а концентрация клеток отрицательно – с прямолинейностью движения (STR, $r = -0.4 - -0.8$) [Смирнов и др., 2022]. Анализ структуры связей также показал, что факторные нагрузки для морфологических показателей меньше, чем для подвижности и концентрации сперматозоидов.

Для *Cl. glareolus* обнаружили согласованность реакции на загрязнение: одновременное увеличение доли аномальных клеток, уменьшение доли подвижных клеток и их скорости на импактных участках, а также уменьшение подвижности сперматозоидов с увеличением концентрации токсичных элементов (Cd, Pb) в организме. Однако, несмотря на статистическую значимость, все обнаруженные эффекты оказались слабыми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проверяемые гипотезы подтвердились лишь частично.

1) Химическое загрязнение ухудшает показатели сперматозоидов грызунов из природных популяций, однако реакция на загрязнение оказалась слабой. Тем не менее, обнаруженная на индивидуальном уровне статистически значимая отрицательная зависимость между концентрациями токсичных металлов в организме и подвижностью сперматозоидов может косвенно свидетельствовать о каузальном характере даже слабых токсических эффектов. Кроме того, на импактных участках показатели и морфологии (доля аномальных клеток), и подвижности изменялись однонаправленно – в сторону ухудшения качества сперматозоидов. Такая согласованность реакции на химическое загрязнение может приводить к суммации многих слабых эффектов, что делает «итоговый популяционный» эффект не столь слабым. Важно отметить, что вклад фактора «район» в изменчивость показателей в большинстве тестов был несущественным. Это может свидетельствовать о сходстве воздействия двух источников загрязнения и выявлении закономерностей, которые не связаны со спецификой выбросов конкретного предприятия.

Слабые эффекты загрязнения можно объяснить наличием гомеостатических барьеров, в первую очередь гематотестикулярного, надежно защищающих репродуктивную функцию животных. К причинам слабых эффектов можно также отнести пространственную мозаичность токсической нагрузки, подвижность грызунов, которая позволяет избегать неблагоприятных местообитаний. Кроме того, нельзя исключить, что исследованный уровень загрязнения был недостаточен для существенного сдвига репродуктивных показателей. Это обуславливает необходимость верификации выводов для воздействия других источников промышленного загрязнения.

2) Большинство показателей сперматозоидов грызунов оказались видоспецифичны, даже при рассмотрении близкородственных *Cl. glareolus* и *Cl. rutilus*. По-видимому, это отражает различные репродуктивные стратегии видов. Видоспецифичной оказалась и реакция сперматозоидов на химическое загрязнение. Наиболее ярко токсические эффекты проявились у *Cl. glareolus*. К сожалению,

пока мы не можем исключить, что менее выраженные эффекты (или их отсутствие) у *Cl. rutilus* и *S. uralensis* могут быть обусловлены небольшими размерами выборок для этих видов. Тем не менее, крайне низкие концентрации металлов у *S. uralensis* на импактных участках корреспондируются с отсутствием токсических эффектов. В свою очередь, низкая токсическая нагрузка на организм *S. uralensis* может быть обусловлена особенностями биологии этого вида: высокой миграционной подвижностью, преимущественным питанием семенами, максимально защищенными от аккумуляции металлов и др. Видоспецифичность реакции на загрязнение свидетельствует о рискованности экстраполяции результатов с одного вида на другой и важности включения в экотоксикологические исследования разных видов.

3) Реакция сперматозоидов на химическое загрязнение не зависит от варианта онтогенеза грызунов. Однако перспективным представляется изучение изменчивости, связанной со стадиями полового развития (созреванием, зрелостью, угасанием половой функции), поскольку у сеголетов с инволюцией половых желез обнаружена более высокая частота встречаемости дефектов головки по сравнению с перезимовавшими особями. Это свидетельствует о том, что эффекты блокировки репродуктивной функции намного сильнее эффектов, связанных с календарным возрастом животных. Пока этот вариант изменчивости исследован только для морфологических показателей сперматозоидов. Несомненна перспективность такого анализа и для других показателей сперматозоидов – подвижности и концентрации.

ВЫВОДЫ

1. Показатели морфологии, подвижности и концентрации эпидидимальных сперматозоидов трех видов грызунов бореальной зоны (*Clethrionomys glareolus*, *Cl. rutilus*, *Sylvaemus uralensis*) не зависят от варианта онтогенеза и достигают дефинитивных значений у половозрелых сеголетов и перезимовавших особей; следовательно, потенциальный вклад самцов этих групп в воспроизводство популяции можно считать равноценным.

2. Химическое загрязнение, в том числе на индивидуальном уровне, слабо влияет на качество эпидидимальных сперматозоидов трех модельных видов грызунов, что может быть связано с наличием эффективных гомеостатических барьеров, в первую очередь гематотестикулярного. Изученные показатели сперматозоидов нельзя считать надежными маркерами химического загрязнения.

3. Показатели подвижности эпидидимальных сперматозоидов грызунов более чувствительны к химическому загрязнению по сравнению с морфологи-

ческими параметрами, что согласуется с представлениями о консервативности клеточных структур. Одинаково низкая частота аномальных сперматозоидов в разных популяционных группах может свидетельствовать о естественно обусловленном фоновом уровне этого показателя.

4. Реакция показателей сперматозоидов исследованных видов на химическое загрязнение видоспецифична: полевки сильнее реагируют на загрязнение по сравнению с малой лесной мышью; выраженность эффектов уменьшается в ряду *Cl. glareolus* > *Cl. rutilus* > *S. uralensis*. Устойчивость малой лесной мыши к загрязнению может быть обусловлена особенностями ее биологии, в частности большей подвижностью и преимущественным питанием семенами.

5. У *Cl. glareolus*, наиболее чувствительного к химическому загрязнению из изученных видов, морфологические показатели и подвижность сперматозоидов с увеличением токсической нагрузки изменяются однонаправленно (ухудшаются), что свидетельствует о согласованной реакции половых клеток на загрязнение.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России:

1. Давыдова Ю.А. Морфометрические признаки сперматозоидов рыжей полевки, красной полевки и малой лесной мыши / Ю.А. Давыдова, С.В. Мухачева, **Г.Ю. Смирнов** // Вестник ИрГCSXA. – 2017а. – № 83. – С. 37–41.
2. **Смирнов Г.Ю.** Влияние промышленного загрязнения среды обитания на встречаемость аномальных сперматозоидов у рыжей полевки (*Myodes glareolus*) / Г.Ю. Смирнов, Ю.А. Давыдова // Экология. – 2018. – № 5. – С. 403–408.
3. **Смирнов Г.Ю.** Онтогенетические изменения морфологии сперматозоидов рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*) / Г.Ю. Смирнов, Ю.А. Давыдова // Экология. – 2020. – № 2. – С. 156–159.
4. **Smirnov G.Yu.** Inter- and intraspecific variability of morphometric parameters of rodent spermatozoa / G.Yu. Smirnov, M.V. Modorov, Yu.A. Davydova // Zoo-morphology. – 2021. – Vol. 140. – № 3. – P. 405–418.
5. **Смирнов Г.Ю.** Подвижность сперматозоидов рыжей (*Clethrionomys glareolus*) и красной (*Cl. rutilus*) полевок в условиях промышленного загрязнения / Г.Ю. Смирнов // Экология. – 2022. – № 1. – С. 74–84.

В сборниках статей и материалах конференций:

6. **Смирнов Г.Ю.** Качественная оценка морфологии сперматозоидов рыжей полевки *Myodes glareolus* Schreber в условиях промышленного загрязнения /

- Г.Ю. Смирнов // Экология: факты, гипотезы, модели: Материалы конф. молодых ученых, 27–31 марта 2017 г. – Екатеринбург: ИД «Лисица», 2017. – С. 119.
7. Давыдова Ю.А. Морфометрические признаки сперматозоидов рыжей полевки, обитающей в окрестностях медеплавильного завода / Ю.А. Давыдова, С.В. Мухачева, **Г.Ю. Смирнов** // Известия Российской Военно-медицинской академии. – 2017b. – Т. 36. – № 2 (S 1). – С. 10–11.
8. **Смирнов Г.Ю.** Определение параметров подвижности сперматозоидов грызунов из природных популяций с использованием автоматического анализатора / Г.Ю. Смирнов // Молодежь и наука на Севере: Материалы докладов III Всероссийской молодежной научной конференции, 12–14 марта 2018 г. – Сыктывкар: ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», 2018. – Т. 1. – С. 124–125.
9. **Смирнов Г.Ю.** Внутривидовая изменчивость морфометрических признаков нормальных сперматозоидов грызунов / Г.Ю. Смирнов // Экология и эволюция: новые горизонты: материалы международного симпозиума, посвященного 100-летию академика С. С. Шварца, 1–5 апр., 2019 г. / Ин-т экологии растений и животных УрО РАН. – Екатеринбург: Гуманит. ун-т, 2019. – С. 282–284.
10. **Смирнов Г.Ю.** Встречаемость аномальных сперматозоидов у грызунов в районах двух медеплавильных заводов / Г.Ю. Смирнов // Морфология. – 2020. – Т. 157. – № 2. – С. 197.
11. **Смирнов Г.Ю.** Содержание тяжелых металлов в организме мелких млекопитающих Висимского заповедника (2019–2020 гг.) / Г.Ю. Смирнов // Научные Исследования на ООПТ Урала: Тезисы докладов Межрегиональной конференции, посвященной 50-летию Висимского государственного биосферного заповедника. – Екатеринбург: Издательство УМЦ УПИ, 2021. – С. 114–120.
12. **Смирнов Г.Ю.** Качество эпидидимальных сперматозоидов грызунов из окрестностей медеплавильных заводов / Г.Ю. Смирнов, Ю.А. Давыдова, И.А. Кшнясев // Материалы конференции «Млекопитающие в меняющемся мире: актуальные проблемы териологии» (XI Съезд Териологического общества при РАН). – М.: Тов-во научных изданий КМК, 2022. – С. 326.

Подписано в печать 15.08.2022
Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс»
Формат 60x84/16. Объем 1 авт. л.
Тираж 120 экз. Заказ № 130
Отпечатано в копировальном центре «Университетский»
620063, г. Екатеринбург, пер. Университетский, д. 3
Тел: 8 (343) 257 90 50