

3. Lavrenova V. Import podkisliteley kormov // Tsenovik. – 2016. – № 2. – S. 53-55.

4. Normy i ratsiony kormleniya sel'skokhozyaystvennykh zhiivotnykh. Spravochnoe posobie / A.P. Kalashnikov, N.I. Kleymenov, V.N. Bakanov i dr. – M.: Agropromizdat, 1985. – 352 s

5. Normy i ratsiony kormleniya sel'skokhozyaystvennykh zhmvotnykh. Spravochnoe posobie. – 3-e izd. pererab. i dop. / pod

red. A.P. Kalashnikova, V.I. Fisina, V.V. Shcheglova, N.I. Kleymenova. – M., 2003. – 456 s.

6. Ovsyannikov I.A. Osnovy opytnogo dela v zhiivotnovodstve. – M.: Kolos, 1976. – 223 s.

7. Savchenko O.V. Vliyanie podkislitelya na produktivnye kachestva molodnyaka sviney na otkorme: avtoref. dis. ... kand. s.-kh. nauk. – Troitsk, 2005. – 18 s.



УДК 636.39

**В.А. Багиров, В.А. Воеводин, П.М. Кленовицкий,
Б.С. Иолчиев, М.А. Жилинский, И.Н. Шайдуллин
V.A. Bagirov, V.A. Voyevodin, P.M. Klenovitskiy,
B.S. Iolchiyev, M.A. Zhilinskiy, I.N. Shaydullin**

ПОВЫШЕНИЕ КРИОУСТОЙЧИВОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ КОЗЛОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ УДАЛЕНИЯ СЕМЕННОЙ ПЛАЗМЫ ПУТЕМ ФИЛЬТРАЦИИ

INCREASE IN CRYOSTABILITY OF GOAT BUCK SEMEN AS A RESULT OF REMOVAL OF SEMINAL PLASMA BY FILTRATION

Ключевые слова: козлы, криоконсервация, эякулированное семя, подвижность, семенная плазма, фильтрация, акросома, коагуляция желтка.

Разработан метод получения семени козлов, свободного от семенной плазмы. Приведена сравнительная характеристика нативного и отфильтрованного семени, полученного одновременно от одних и тех же производителей. Показано, что свежее нативное и отфильтрованное семя соответствует требованиям, предъявляемым его качеству при искусственном осеменении. После же процесса замораживания-оттаивания нормальную подвижность сохраняет лишь семя козлов, освобожденное путем фильтрации от плазмы.

Keywords: goat bucks, cryopreservation, ejaculated semen, motility, seminal plasma, filtration, acrosome, yolk coagulation.

A method for obtaining of goat buck sperm which is free of seminal plasma has been developed. Comparative characteristics of native and filtered semen obtained simultaneously from the same producers are given. It is shown that fresh native and filtered semen satisfy the requirements that are imposed on its quality in artificial insemination. After the freeze-thaw process, only goat buck sperm released from plasma by filtration retains normal motility.

Багиров Вугар Алиевич, д.б.н., проф., зав. лаб. репродуктивной криобиологии, член-корр. РАН, Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл. E-mail: vugarbagirov@mail.ru.

Воеводин Владимир Александрович, к.б.н., м.н.с., Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл. E-mail: vovavo85@mail.ru.

Кленовицкий Павел Михайлович, д.б.н., проф., гл. н.с., Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл. E-mail: klenpm@mail.ru.

Иолчиев Байлар Садраддинович, д.б.н., вед. н.с., Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл. E-mail: baylar2@mail.ru.

Bagirov Vugar Aliyevich, Dr. Bio. Sci., Prof., Head, Reproductive Cryobiology Lab., Corr. Member of Rus. Acad. of Sci., Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Moscow Region. E-mail: vugarbagirov@mail.ru.

Voyevodin Vladimir Aleksandrovich, Cand. Bio. Sci., Junior Staff Scientist, Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Moscow Region. E-mail: vovavo85@mail.ru.

Klenovitskiy Pavel Mikhaylovich, Dr. Bio. Sci., Prof., Chief Staff Scientist, Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Moscow Region. E-mail: klenpm@mail.ru.

Iolchiyev Baylar Sadraddinovich, Dr. Bio. Sci., Leading Staff Scientist, Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Moscow Region. E-mail: baylar2@mail.ru.

Жилинский Михаил Александрович, м.н.с., Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл. E-mail: naitkin888@mail.ru.

Шайдуллин Ильяс Нургалиевич, д.б.н., гл. н.с., проф., Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл. E-mail: ovismgavm@mail.ru.

Zhilinskiy Mikhail Aleksandrovich, Junior Staff Scientist, Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Moscow Region. E-mail: naitkin888@mail.ru.

Shaydullin Ilyas Nurgaliyevich, Dr. Bio. Sci., Prof., Chief Staff Scientist, Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Moscow Region. E-mail: ovismgavm@mail.ru.

Коза (*Capra hircus*) является одним из первых одомашненных видов животных [1]. В связи со своей неприхотливостью этот вид сельскохозяйственных животных получил широкое распространение в мире. По данным ФАО [2], по числу животных козы стоят на третьем месте после крупного рогатого скота и овец. В 2014 г. их численность в мире превысила 1,011 млрд гол. При этом отмечается неравномерное распределение коз по регионам. Преобладающая часть их поголовья сосредоточена в Азии и Африке: 57,02 и 37,42% от общего поголовья, соответственно. Концентрация основного поголовья коз в Африке и Азии обусловлена тем, что другие виды скота проигрывают козам в степени приспособленности к условиям этих регионов. На долю обеих Америк приходится 3,52%, причем большая часть поголовья сосредоточена в Центральноамериканском регионе. На долю Европы приходится более 1,6% от всего поголовья коз и около 0,4% – на долю Австралии с Новой Зеландией и Океанией.

По тем же данным [2] в период с 2000 по 2014 гг. поголовье коз в мире увеличилось на 259,83 млн, или 34,58%. Наимень-

ший рост поголовья – 2,06% отмечен в Американском регионе, а наибольший – 75,66% в Австралии и Новой Зеландии. В Азии и Африке прирост поголовья за этот период составил 26,65 и 58,20% соответственно. В Европе же за это время число коз сократилось на 12,71%.

Производство молока и мяса коз в мире увеличилось за анализируемый период на 44,11 и 4726% соответственно [3]. В Европе в это же время производство козлятины сократилось на 15,22%, производство молока увеличилось на 3,85%. Это обусловлено тем, что в Европе преобладает молочное козоводство. Наиболее продуктивное племенное поголовье коз молочных пород сосредоточено в Швейцарии, Германии и Франции [4, 5].

В Российской Федерации поголовье коз анализируемый период росло до 2004 г., после чего произошло его стабильное снижение (рис. 1). В 2014 г. их число по сравнению 2000 г. уменьшилось на 56 тыс. гол., или 2,65% [2]. Производство мяса и молока коз в стране за этот период стабильно снижалось (рис. 2,3), к 2014 г. – на 14,22 и 23,22% соответственно [3].

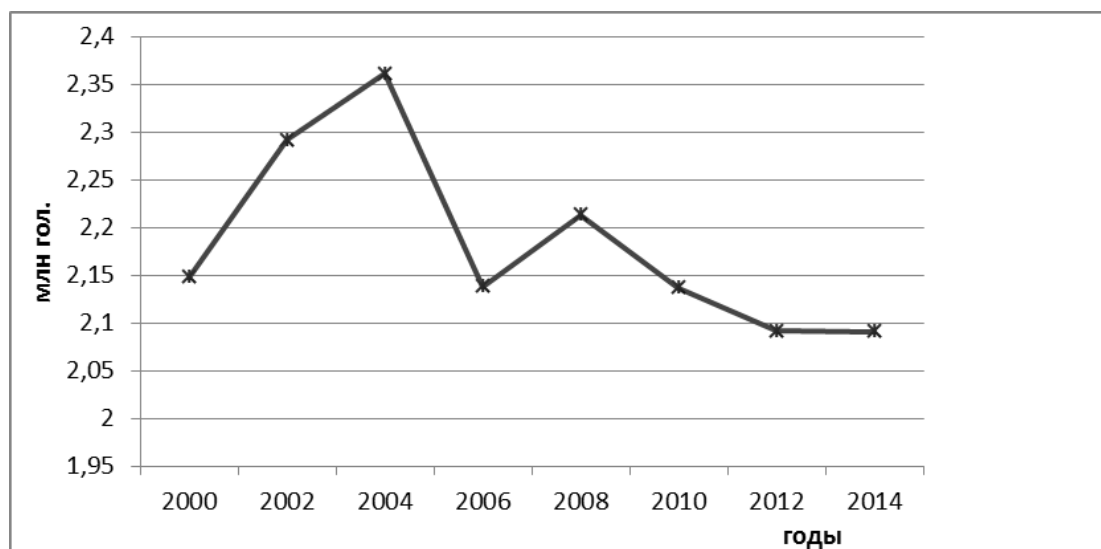


Рис. 1. Динамика поголовья коз в России в период с 2000 по 2014 гг.

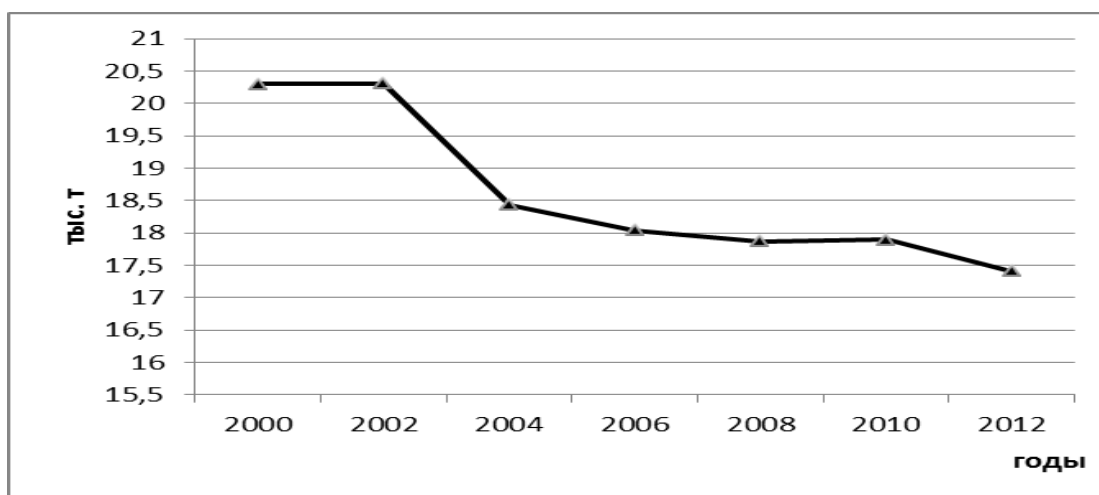


Рис. 2. Динамика производства мяса коз в России в период с 2000 по 2013 гг. (данные по 2014 г. на сайте ФАО отсутствуют)

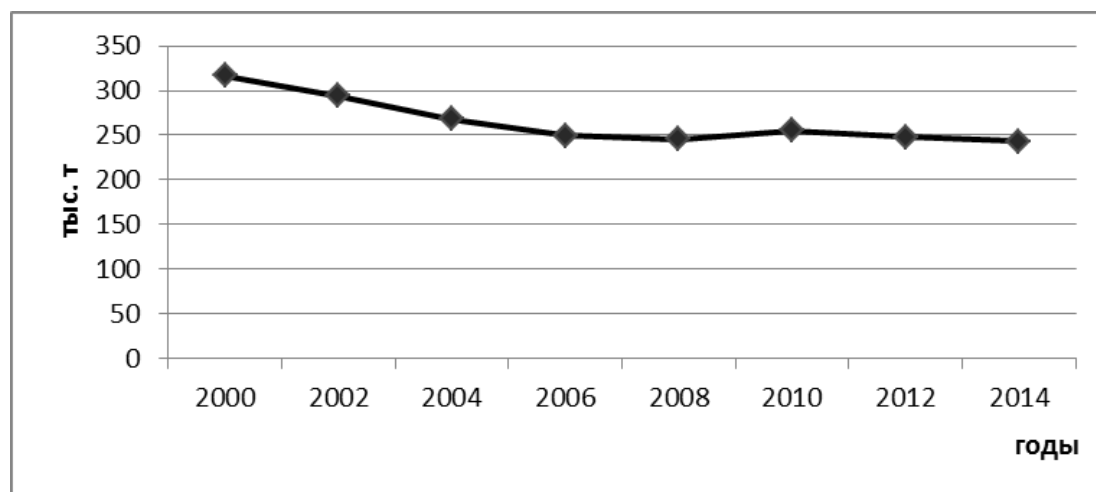


Рис. 3. Динамика производства молока коз в России в период с 2000 по 2014 гг.

Роль этого вида в дальнейшем развитии животноводства обусловлена тем, что в разведении и содержании козы являются наиболее неприхотливыми животными. Они менее требовательны к кормам, в связи с чем более эффективно, в сравнении с другими домашними жвачными, используют пастбищные ресурсы, поедая более 600 видов трав, а также низкорослых кустарников. В России представляет интерес разведение коз не только на частных подворьях, но и в специализированных фермерских хозяйствах и общественном секторе.

Одним из условий эффективного использования мирового и отечественного генофонда коз является широкое использование искусственного осеменения. К сожалению, в имеющихся единичных племенных стадах, а тем более на крестьянских подворьях России, искусственное осеменение коз не практикуется. По этой причине продуктив-

ность отечественных коз значительно уступает мировому уровню. При этом необходимо отметить, что использование для осеменения свежесвятого или охлажденного семени является лишь частичным решением проблемы, поскольку ограничивает период использования выдающихся производителей временем их жизни.

Данная проблема может быть решена на основе криоконсервации спермы, но замораживание сперматозоидов козлов пока недостаточно эффективно в силу их специфических особенностей. Например, разбавители для спермы быков и козлов имеют аналогичный компонентный состав, однако семенная плазма козлов в сочетании с яичным желтком оказывает отрицательное влияние на жизнеспособность сперматозоидов козлов.

Негативное взаимодействие содержащегося в плазме семени козлов секрета копулятивных желёз с желтком куриного яйца

(ЖКЯ) впервые было описано в 1957 г. A. Roy [4], который установил, что если свежеполученное семя добавляли в разбавитель с желтком, то желток куриного яйца (ЖКЯ) коагулировал и сперматозоиды погибали, а при удалении семенной плазмы сперматозоиды козла сохраняли подвижность в разбавителе с ЖКЯ. Автором было показано, что коагуляцию желтка вызывает фермент, получивший название egg yolk coagulating enzyme (EYCE) или ЖКЯ – коагулирующий фермент. В настоящее время установлена биохимическая природа этого фермента показано, что он относится к классу триацилгли церол липаз. Этот фермент, катализирует гидролиз лецитина, содержащегося в яичном желтке, до свободных жирных кислот и лизолецитина. В результате образуются токсические вещества, приводящие к увеличению проницаемости цитоплазматической мембраны, ускорению акросомной реакции и увеличению индекса фрагментации ДНК в хроматине.

Аналогичный эффект взаимодействия плазмы семени козлов с белками молока обнаружили Nunes J. et al. [5]. Авторы показали, что синтезируемый в куперовых железах козла белок, снижал выживаемость охлажденных и замороженных сперматозоидов, разбавленных средой, содержащей молоко. По данным Pellicer-Rubio M.T. and Combarrous Y. [6] SBUIII инициировал акросомную реакцию и последующую гибель клеток, инкубированных в молочном разбавителе при 37°C.

Iritani A. and Nishikawa Y. [7, 8] установили, что EYCE – это фосфолипаза, A. Pellicer-Rubio M.T. and Combarrous Y. [6] определили SBUIII как 55-60 kDa гликопротеин-липаза из куперовых желез козлов (BUSgp60). Leboeuf B. et al. [9] предположили, что EYCE и SBUIII – это одна и та же молекула.

Для преодоления вредного взаимодействия семенной плазмы с яичным желтком или белками молока сперму козлов отмывают буферными разбавителями. В качестве промывающего раствора в зависимости от технологии используют фосфатно-солевой буфер (с добавлением или без добавления глюкозы), криосреду (снятое молоко, трис или другие среды) без глицерина. Разбавление семени козлов промывающим раствором осуществляется, как правило, в соотношении 1:5 до 1:10. По данным австралийских исследователей увеличение степени разбавления до 1:20 позволяет повысить эффективность отмывки

семенной жидкости [10]. На показатели качества семени влияет число промывок, которое обычно варьирует от 1 до 3. По данным австралийских исследователей увеличение числа промывок от 1 до 2 при разбавлении 1:5 до 1:10 позволяет повысить результативность удаления семенной жидкости [10].

Учитывая то, что неоднократная промывка семени достаточно трудоемка и требует освобождения сперматозоидов от промывной среды [11, 12], мы поставили перед собой цель – разработать более простую технологию подготовки спермы козлов-производителей к глубокому замораживанию (криоконсервации), позволяющую сохранять высокую биологическую полноценность сперматозоидов. Разработка подобной технологии глубокого замораживания спермы козлов позволит создать банк спермы высокоценных козлов-производителей и широко использовать метод искусственного осеменения коз для повышения продуктивности стад на территории Российской Федерации.

С другой стороны, создание криобанка семени редких и исчезающих диких видов и пород домашних животных позволит не только сохранять, но и рационально использовать уникальные генетические ресурсы, создавая на их основе новые ценные формы животных путем отдаленной гибридизации и метизации животных [13, 14].

Целью исследования является повышение качества криоконсервированного семени козлов-производителей. Для ее достижения были поставлены следующие **задачи**:

провести фракционирование семени козлов-производителей методом фильтрации;

дать сравнительную характеристику морфофункциональных показателей замороженно-оттаянных сперматозоидов в цельной и отфильтрованной сперме козлов.

Материал и методы

Работа выполнена в лаборатории репродуктивной криобиологии ВИЖ им. Л.К. Эрнста на козлах производителях зааненской породы (n=8). В экспериментах для получения эякулированного семени домашних козлов использовали клинически здоровых животных в возрасте 12 мес. и старше. Животных кормили в соответствии с нормами ВИЖ. Семя получали методом электроэякуляции и на искусственную вагину.

Оценку качества семени проводили с использованием программы «Зоосперм», разработанной фирмой «Видеотест» (г. Санкт-Петербург), по методике, описанной нами ранее [15]. Каждый сперматозоид распознается программой по заданным параметрам и проводится оценка его подвижности. В зависимости от характера перемещения сперматозоидов программа относит их к одному из четырех классов:

А – сперматозоиды с быстрым (скорость не менее 25 мкм/с) прямолинейно-поступательным движением. Сперматозоиды этого класса в течение двух секунд преодолевают расстояние, равное своей длине;

В – с медленным прямолинейным движением: скорость менее 25 мкм/с;

С – с маневрным или колебательным движением;

Д – неподвижные [16].

Концентрацию сперматозоидов осуществляли в камере Маклера путем подсчета их числа в 10 квадратах. Полученная величина является концентрацией сперматозоидов млн/мл. Подсчет сперматозоидов возможен как в визуальном, так и в автоматическом режиме [15]. Для определения среднего значения подсчет повторяли ещё в 1-2 полосках из 10 квадратов. Для повышения достоверности оценки проводили подсчет в 2-3 каплях одного и того же образца.

Процент интактных (неповреждённых) акросом определяли с использованием дифференциального окрашивания (Diff Quick набор).

В окрашенных мазках подсчитывали количество сперматозоидов с интактными акросомами, при анализе не менее 100 сперматозоидов в 20 полях зрения под увеличением 200× [15].

Результаты исследования

Для повышения эффективности замораживания эякулированного семени козлов нами была предложена методика отделения плазмы с помощью мембранной фильтрации. Образцы свежеполученного семени объемом 1-2,5 мл помещали в одноразовый шприц объемом 5 мл и под давлением поршня пропускали через мембрану фильтра Sameo25AS с диаметром пор 0,45 мкм, задерживающую прохождение сперматозоидов. Оставшиеся на мембране фильтра сперматозоиды отмывали модифицированной нами криопротективной средой (табл. 1), присоединяя шприц с разба-

вителем к обратной стороне фильтрующей насадки. Количество среды для смыва сперматозоидов из одного образца брали равным объему эякулята.

Эта же среда была использована для разбавления семени и его замораживания. Полученные в результате фильтрации сперматозоиды после разбавления эквilibрировали и замораживали в гранулах на фторопластовой пластине.

Для оценки эффективности предложенного метода замораживания семени была проведена сравнительная оценка качества нативных эякулированных сперматозоидов и освобожденных от плазмы до и после замораживания. Результаты этой оценки приведены в таблице 2. В свежезятом семени нативные и освобожденные от плазмы сперматозоиды обладали практически одинаковой подвижностью и сохранностью акросом ($p > 0,05$). Увеличение доли аномальных клеток после отделения плазмы, возможно, обусловлено механическими повреждениями сперматозоидов в процессе фильтрации.

Таблица 1
Состав модифицированной среды для криоконсервации сперматозоидов козла

Ингредиенты	Химическая формула	Масса ингредиентов на 100 мл среды
Лактоза	$C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$	2,17 г
Лимонная кислота	$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	1,52 г
Трис	$C_4H_{11}NO_3$	2,74 г
Желток		10 мл
Глицерин	$C_3H_8O_3$	2 мл
ДМСО	C_2H_6SO	2,5 мл
BSA		0,5 г
Бидистиллированная вода	H_2O	100 мл
pH среды		7,05

Однако доля аномальных сперматозоидов не превышает допустимого при криоконсервации значения этого показателя.

Подвижность сперматозоидов в нативном семени после оттаивания была в 3 лишним раза ниже ($p < 0,001$), чем у отфильтрованных сперматозоидов, что и следовало ожидать, исходя из данных о негативном влиянии ферментов семенной плазмы у козлов на жизнеспособность сперматозоидов. Целостность акросом у отфильтрованных сперматозоидов после оттаивания также была достоверно выше ($p < 0,05$), в опыте также несколько повысилась доля морфологически нормальных клеток.

Влияние отделения плазмы семени на качество эякулированных сперматозоидов козлов до и после их криоконсервации

Показатели	Эякулированные сперматозоиды с плазмой семени	Эякулированные сперматозоиды без плазмы семени в смывах с мембран
Концентрация до разбавления, 10 ⁶ /мл	1760,8±110,1	1535±240
Подвижность свежеполученных сперматозоидов, %	83,8±2,8	82,3±2,5
Целостность акросом свежеполученных сперматозоидов, %	90±1,2	91±2,4
Морфологически нормальных клеток, %	94,2±2,4	84,7±3,1
Концентрация после разбавления, 10 ⁶ /мл	300±12,2	310±12,5
Подвижность после оттаивания, %	12,4±1,1	39,5±1,3
Целостность акросом после оттаивания, %	65,5±2,3	73,8±2,6
Морфологически нормальные клетки после оттаивания, %	81±3,2	89±2,9

Заключение

Следовательно, полученные нами данные однозначно свидетельствуют об эффективности отделения семенной плазмы в качестве биотехнологического приема для повышения биологической полноценности заморожено-оттаянного семени самцов представителей рода *Capra*. Содержание сперматозоидов с прогрессивно-поступательным движением (ППД) в образцах цельного семени при использовании криопротекторной среды с яичным желтком в три раза ниже, чем у свободных от семенной плазмы. Доля сперматозоидов с прогрессивно-поступательным движением в последнем случае соответствует норме для данного вида.

Библиографический список

- Куликов Л.В. История и методология зоотехнической науки. – М.: РУДН, 2001. – 146 с.
- <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA/visualize> (15.05.2017).
- <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>(15.05.2017).
- Roy A. Egg Yolk-Coagulating Enzyme in the Semen and Cowper's Gland of the Goat // *Nature*. – 1957. – Vol. 179. – R. 318.
- Nunes J., Etude des effets du plasma seminal sur la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc // These de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie. – Paris. – 1982. – 33 p.
- Pellicer-Rubio M.T., Combarous Y. Deterioration of goat spermatozoa in skimmed

milk-based extenders as a result of oleic acid released by the bulbourethral lipase BUSgp60 // *J. Reprod. Fertil.* – 1998. – Vol. 112 (1). – P. 95-105.

7. Iritani A., Nishikawa Y. Studies on the egg-yolk coagulating factors in goat semen: II Properties of the coagulating factor and influential conditions for coagulation // *Proc. Silver Jubilee Lab. Anim. Husbandry, Kyoto University*. – 1961. – P. 97-104.

8. Iritani A., Nishikawa Y. Studies on the egg-coagulating enzyme in goat semen: IV. On the position of yolk constituents attacked by the coagulating enzyme // *Jpn. J. Anim. Reprod.* – 1963. – Vol. 8 (4). – P. 113-117.

9. Leboeuf B., Restall B., Salamon S. Production and storage of goat semen for artificial insemination // *Anim. Reprod. Sci.* – 2000. – Vol. 62 (1-3). – P. 113-141.

10. Ritar A.J., Salamon S. Effects of seminal plasma and its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat // *Aust. J. Biol. Sci.* – 1982. – Vol. 35 (3). – P. 305-312.

11. Corteel J.-M., Baril G. Viabilité des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma seminal: effet du glucose // *Ann. Biol. Anim., Biochim., Biophys.* – 1974. – Vol. 14 (4B). – P. 741-745.

12. Corteel J.-M. The use of progestagens to control the oestrus cycles of the dairy goat // *Ann. Biol. Anim., Biochim., Biophys.* – 1975. – Vol. 15 (2). – P. 353-363.

13. Багиров В.А., Насибов Ш.Н., Кленовицкий П.М., Лесин С.А., Воеводин В.А., Зиновьева Н.А., Эрнст Л.К., Калашников В.В., Солошенко В.А. Сохранение и рациональное использование генофонда животных // Доклады РАСХН. – 2009. – № 2. – С. 37-40.

14. Багиров В.А., Эрнст Л.К., Насибов Ш.Н., Кленовицкий П.М., Иолчиев Б.С., Зиновьева Н.А. Сохранение биоразнообразия животного мира и использование отдаленной гибридизации в животноводстве // Достижения науки и техники АПК – 2009. – № 7. – С. 54-56.

15. Иолчиев Б.С., Багиров В.А., Кленовицкий П.М., Кононов В.П., Насибов Ш.Н., Воеводин В.А. Компьютерная технология оценки семени животных // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 9. – С. 46-48.

16. WHO laboratory manual for examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction / пер. с англ. Р.А. Нерсеяна под науч. ред. рус. перевода Л.Ф. Курило. – 4-е изд. – М.: МедПресс, 2001. – 144 с.

References

1. Kulikov L.V. Istoriya i metodologiya zootekhnicheskoy nauki. – М.: RUDN. – 2001. – 146 s.

2. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA/visualize> (15.05.2017).

3. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL> (15.05.2017).

4. Roy A. Egg Yolk-Coagulating Enzyme in the Semen and Cowper's Gland of the Goat // Nature. – 1957. – Vol. 179. – R. 318.

5. Nunes J., Etude des effets du plasma seminal sur la survie in vitro des spermatozoides de bouc // These de Doctorat, Universite Pierre et Marie Curie. – Paris. – 1982. – 33 p.

6. Pellicer-Rubio M.T., Combarous Y. Deterioration of goat spermatozoa in skimmed milk-based extenders as a result of oleic acid released by the bulbourethral lipase BUSgp60 // J. Reprod. Fertil. – 1998. – Vol. 112 (1). – P. 95-105.

7. Iritani A., Nishikawa Y. Studies on the egg-yolk coagulating factors in goat semen: II Properties of the coagulating factor and influential conditions for coagulation // Proc. Sil-

ver Jubilee Lab. Anim. Husbandry, Kyoto University. – 1961. – P. 97-104.

8. Iritani A., Nishikawa Y. Studies on the egg-coagulating enzyme in goat semen: IV. On the position of yolk constituents attacked by the coagulating enzyme // Jpn. J. Anim. Reprod. – 1963. – Vol. 8 (4). – P. 113-117.

9. Leboeuf B., Restall B., Salamon S. Production and storage of goat semen for artificial insemination // Anim. Reprod. Sci. – 2000. – Vol. 62 (1-3). – P. 113-141.

10. Ritar A.J., Salamon S. Effects of seminal plasma and its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat // Aust. J. Biol. Sci. – 1982. – Vol. 35 (3). – P. 305-312.

11. Corteel J.-M., Baril G. Viabilite des spermatozoides de bouc conserves et congeles avec ou sans leur plasma seminal: effet du glucose // Ann. Biol. Anim., Biochim., Biophys. – 1974. – Vol. 14 (4B). – P. 741-745.

12. Corteel J.-M. The use of progestagens to control the oestrus cycles of the dairy goat // Ann. Biol. Anim., Biochim., Biophys. – 1975. – Vol. 15 (2). – P. 353-363.

13. Bagirov V.A., Nasibov Sh.N., Klenovitskiy P.M., Lesin S.A., Voevodin V.A., Zinovjeva N.A., Ernst L.K., Kalashnikov V.V., Soloshenko V.A. Sokhranenie i ratsionalnoe ispolzovanie genofonda zhivotnykh // Doklady RASKhN. – 2009. – № 2. – S. 37-40.

14. Bagirov V.A., Ernst L.K., Nasibov Sh.N., Klenovitskiy P.M., Iolchiev B.S., Zinovjeva N.A. Sokhranenie bioraznoobraziya zhivotnogo mira i ispolzovanie otdalennoy gibrizatsii v zhivotnovodstve // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. – 2009. – № 7. – S. 54-56.

15. Iolchiev B.S., Bagirov V.A., Klenovitskiy P.M., Kononov V.P., Nasibov Sh.N., Voevodin V.A. Kompyuternaya tekhnologiya otsenki semeni zhivotnykh // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. – 2011. – № 9. – S. 46-48.

16. WHO laboratory manual for examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction / пер. с англ. Р.А. Нерсеяна под научн. ред. рус. перевода Л.Ф. Курило. – 4-е издание. – М.: Изд-во «MedPress», 2001. – 144 с.

