

УДК 619:618.177-089.888.11

UDC 619:618.177-089.888.11

06.00.00 Сельскохозяйственные науки

Agricultural sciences

УСПЕШНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИНДЕКСА ПРИЗНАКОВ ПОЛОВОЙ ОХОТЫ ПРИ ПРОГНОЗЕ ЭМБРИОПРОДУКТИВНОСТИ КОРОВ-ДОНОРОВ ЭМБРИОНОВ

SUCCESSFUL APPLICATION OF SIGNS OF HEAT INDEX IN MAKING PROGNOSIS FOR EMBRYO DONOR COW PRODUCTIVITY

Косовский Глеб Юрьевич
д.б.н., профессор РАН
SPIN- код: 3736- 3480

Kosovsky Gleb Yurevich
Dr.Sci.Biol., professor of RAS
RSCI SPIN-code: 3736- 3480

Попов Дмитрий Владимирович
SPIN- код: 3657-4880

Popov Dmitriy Vladimirovich
RSCI SPIN-code: 3657-4880

Бригида Артем Владимирович
SPIN- код: 3907-8576
ФГБНУ «Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий»
Россия, 127422, Москва, ул. Костякова д. 12 стр. 4
e-mail: info-ceerb@mail.ru

Brigida Artyom Vladimirovich
RSCI SPIN-code: 3907-8576
FSBSI Center of experimental embryology and reproductive biotechnologies
Russia, 127422, Moscow, Kostyakova ul. 12, build. 4
e-mail: info-ceerb@mail.ru

Проведены исследования полноценности проявления эструса у 34 коров-доноров в период индукции суперовуляции после инъекции Pg F2α. Разработан и внедрен клинический индекс охоты (КИО) – клинический критерий прогнозирования успешности индукции суперовуляции и эмбриопродуктивности. Отмечено, что наилучшие характеристики эмбриосборов определяются у коров-доноров с проявлением феноменов половой охоты в период 48-72 часа после инъекции Pg F2α, в тоже время у животных, проявивших клинические признаки эструса раньше или позже этого периода, в эмбриосборах определяется достоверное увеличение количества эмбрионов с дегенерированными формами или с остановкой развития и неоплодотворенных яйцеклеток

The researches of the quality of 34 donor cows estrus detection during superovulation induction period, after Pg F2α injections were carried out. The clinical heat index was set up and applied. The clinical heat index is clinical prognostic criterion of successfulness of superovulation induction and embryo productivity. It was shown that donor cows showing signs of oestrus during 48-72 hours after Pg F2α injections had the best embryo collection qualities while certain increase of degenerated or aborted embryos and unfertilized oocytes is determined in embryo collections from cows showing signs of oestrus before or after that period

Ключевые слова: КОРОВА-ДОНОР, СУПЕРОВУЛЯЦИЯ, ЭМБРИОПРОДУКТИВНОСТЬ, ЭСТРУС, ПРИЗНАКИ ПОЛОВОЙ ОХОТЫ

Keywords: DONOR COW, SUPEROVULATION, EMBRYO PRODUCTIVITY, OESTRUS, SIGNS OF HEAT

Doi: 10.21515/1990-4665-122-048

Репродуктивные биотехнологии (РБ) всё больше и повсеместно занимают свою нишу в практическом воспроизводстве поголовья в сельскохозяйственном животноводстве. Важность применения РБ в целях ускорения селекционной работы, размножения и преимущественного сохранения животных с желательным проявлением фенотипических

признаков, консолидации имеющихся и получения генетически трансформированных животных не вызывает сомнений [5].

Наиболее востребованными и широко применяемыми РБ практически во всех странах [1] являются суперовуляция и трансплантация эмбрионов. Данные методы позволяют максимально использовать биологический репродуктивный потенциал самки-донора и включают в себя: индукцию суперовуляции, осеменение доноров, извлечение эмбрионов из матки донора хирургическим или нехирургическим методом (через цервикальный канал матки) и трансплантацию их реципиенту [3,4,11].

Индукция суперовуляции и трансплантация эмбрионов дают довольно стабильные результаты, а опыт их разработки и применения накапливается уже в течение 30-ти и более лет [17]. В последнее время в мире проводят до миллиона трансплантаций эмбрионов коров в год, 40% из них — после заморозки и оттаивания и 18% — полученных *in vitro* [16]. Однако важность РБ для решения ряда задач по сохранению и улучшению сельскохозяйственных животных требует дальнейшего развития методов прогноза результатов оплодотворяемости яйцеклеток и нарушений процессов эмбриогенеза, а также результатов эмбриопродуктивности коров-доноров.

По мнению многих исследователей, большую роль в результативности осеменения и выхода оптимального количества качественных эмбрионов, находящихся на соответствующей стадии развития, играет полноценность, последовательность и время проявления признаков охоты у доноров в период после введения гонадотропинов и простагландина F2 α [2,12].

В этой связи целью настоящего исследования стало изучение возможности влияния полноценности и времени проявления признаков половой охоты на результативность эмбриосборов. Для этого были

поставлены следующие задачи: оценить по балльной системе клинические признаки половой охоты коров-доноров эмбрионов; определить клинический индекс охоты (КИО) у исследуемых животных; провести анализ зависимости характеристик эмбриосборов от клинического индекса охоты (КИО) донора.

Материалы и методы

Исследования проводили на коровах молочных пород со сроком 2-3 месяца после отела. Для индукции суперовуляции применяли препарат фолликулостимулирующего гормона в общей дозе 1000 международных единиц по стандартной 10-кратной схеме введения в убывающих дозах в лютеальную фазу полового цикла, для лизиса желтого тела и индуцирования половой охоты через 48 часов после первой инъекции гонадотропина вводили препарат простагландина Pg F2 α . После введения простагландина через 48 часов проводили процедуры искусственного осеменения ректоцервикальным способом 3-хкратно, по схеме утро-вечер-утро [13]. Для определения полноценности половой охоты у коров-доноров эмбрионов отмечали проявления клинических признаков эструса, при этом фиксировалось время проявления признака, период его продолжительности и присваивался соответствующий ему балл, а также по совокупности присвоенных баллов определяли клинические индексы охоты (КИО) донора (таблица 1).

Таблица 1- Балльная оценка проявления клинических признаков охоты;
Клинический индекс проявления охоты (КИО)

Клиническое проявление	Баллы	Наличие признака	
		Да	Нет
Рефлекс неподвижности	40	+	-
Набухание вульвы	15	+	-
Гиперемия слизистой	5	+	-
Наличие слизи	15	+	-
Попытки садок	25	+	-
КИО	100		

На седьмой день после первой процедуры осеменения оценивали результативность индукции суперовуляции путем пальпации яичников per rectum и подсчетом образовавшихся на них желтых тел и в случае хорошей ответной реакции проводили извлечение эмбрионов. Процедуры по извлечению и сбору эмбрионов проводили катетерами и устройствами, разработанными в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий» (ФГБНУ ЦЭЭРБ) [6,7,8,9,10]. Далее определяли характеристики полученных эмбриосборов, при этом вымытые эмбрионы дифференцировали на пригодные к трансплантации и/или криоконсервации, дегенерированные и остановившиеся в развитии, а также определяли неоплодотворенные яйцеклетки [14,15].

Результаты и обсуждения

Полноценность проявления половой охоты у исследуемых животных доноров показаны в таблицах 2,3,4. Проведено исследование 34 коров-доноров, которые были распределены на 3 группы в соответствии со

сроками проявления феноменов половой охоты. В группу 1 (n=12) были включены животные с проявлением признаков охоты в первые 24 часа после инъекции Pg F2 α , и интенсивность и активность проявившихся признаков снижалась и/или затухала совсем через 48 часов; в группе 2 (n=11) - клинические проявления эструса у животных отмечались через 48 часов, и к 72 часам наблюдалось снижение активности и интенсивности проявления признаков половой охоты; группу 3 (n=11) составили животные, у которых клиническое проявления эструса отмечалось в период через 72 и более часов после введения Pg F2 α .

Таблица 2- Клинические индексы охоты у коров-доноров эмбрионов 1 группы

Доноры номер по порядку	Клинические признаки проявления половой охоты - наличие/балл					КИО донора
	Рефлекс неподвижности	Набухание вульвы	Гиперемия слизистой	Наличие слизи	Попытки садок	
1	-	+/15	+/5	-	+/25	45
2	+/40	-	-	+/15	-	55
3	-	-	+/5	+/15	-	20
4	+40	+/15	-	+/15	+/25	95
5	-	+/15	-	-	+/25	40
6	-	-	-	+/15	+/25	40
7	+/40	+/15	-	-	+/25	80
8	-	-	+/5	+/15	+/25	40
9	+/40	-	-	-	+/25	65
10	-	-	+/5	-	+/25	30
11	-	+/15	+/5	+/15	-	35
12	-	+/15	+/5	+/15	+/25	60
КИО в среднем на донора по выборке						50,4

Таблица 3- Клинические индексы охоты у коров-доноров эмбрионов 2 группы

Доноры номер по порядку	Клинические признаки проявления половой охоты – наличие/балл					КИО донора
	Рефлекс неподвижности	Набухание вульвы	Гиперемия слизистой	Наличие слизи	Попытки садок	
1	+/40	+/15	+/5	+/15	-	75
2	+/40	+/15	-	+/15	+/25	95
3	+/40	+/15	-	-	+/25	80
4	-	+/15	+/5	+/15	-	35
5	+/40	-	-	+/15	+/25	80
6	+/40	+/15	-	+/15	+/25	95
7	+/40	+/15	+/5	+/15	+/25	100
8	+/40	-	+/5	+/15	+/25	85
9	-	+/15	+/5	+/15	+/25	60
10	+/40	+/15	-	+/15	+/25	95
11	+/40	-	+/5	+/15	+/25	85
КИО в среднем на донора по выборке						80,4

Таблица 4 - Клинические индексы охоты у коров-доноров эмбрионов 3 группы

Доноры номер по порядку	Клинические признаки проявления половой охоты – наличие/балл					КИО донора
	Рефлекс неподвижности	Набухание вульвы	Гиперемия слизистой	Наличие слизи	Попытки садок	
1	-	-	+/5	-	+/25	30
2	+/40	-	+/5	-	+/25	65
3	+/40	+/15	+/5	-	-	60
4	-	+/15	+/5	-	+/25	45
5	-	+/15	-	+/15	+/25	55
6	-	-	+/5	+/15	+/25	45
7	-	+/15	+/5	+/15	+/25	60
8	+/40	-	+/5	+/15	-	60
9	-	-	+/5	+/15	+/25	45
10	+/40	+/15	-	+/15	-	70
11	-	+15	+/5	+/15	-	35
КИО в среднем на донора по выборке						51,8

Так наиболее высокие значения КИО определялись у животных 2 группы и колебались от 35 до 100 баллов, что в среднем составило 80,4 балла по выборке.

У коров 1 группы клинические индексы охоты определялись в пределах 20-95 баллов, и в среднем по выборке КИО равнялся 50,4 балла.

Для животных 3 группы колебания клинических индексов охоты определялись в пределах 30-70 баллов, и КИО составил 51,8 балла в среднем по выборке.

Таким образом, период проявления и продолжительность клинических признаков эструса у исследуемых животных после инъекции P_g F2 α влияли на полноценность наступления половой охоты и определяли значения КИО коров-доноров.

В таблицах 5,6,7 представлены данные по результативности индукции суперовуляции и эмбриосборов полученных от включенных в исследование коров-доноров

Таблица 5- Результативность эмбриосборов у коров-доноров 1 группы

Доноры номер по порядку	КИО	Кол-во ж.т	Получено эмбрионов	Качественных эмбрионов (штук)	Эмбрионов дегенерированных и с остановкой развития (штук)	Неоплодотворенных яйцеклеток (штук)
1	45	8	8	4	4	-
2	55	9	7	3	4	-
3	20	5	5	4	1	-
4	95	16	12	7	4	1
5	40	9	5	1	3	1
6	40	7	7	2	5	-
7	80	12	9	5	3	1
8	40	6	6	2	4	-
9	65	12	12	5	5	2
10	30	5	3	-	-	3
11	35	7	7	1	6	-
12	60	10	9	9	-	-
Всего	605	106	90	43	39	8
(в среднем на донора)	50,4	8,8	7,5	3,6	3,2	0,6

Так от животных 1 группы было получено в общем 90 эмбрионов, что составило в среднем 7,5 эмбрионов на одного донора, при этом общее количество овуляций было 106, или 8,8 на донора. При этом общее количество пригодных для трансплантации эмбрионов составило 43, или 3,6 в среднем на донора, в тоже время общее число эмбрионов с дегенерированными формами или с остановкой развития равнялось 39, или 3,2 в среднем на корову, а общее количество неоплодотворенных яйцеклеток было 8, или в среднем 0,6 на одного донора.

Таблица 6- Результативность эмбриосборов у коров-доноров 2 группы

Доноры номер по порядку	КИО	Кол-во ж.т	Получено эмбрионов	Пригодных эмбрионов (штук)	Эмбрионов дегенерированных и с остановкой развития (штук)	Неоплодотворенных яйцеклеток (штук)
1	75	12	12	12	-	-
2	95	17	15	10	2	3
3	80	21	17	10	1	6
4	35	7	7	-	-	7
5	80	11	10	10	-	-
6	95	15	10	10	-	-
7	100	14	12	11	1	-
8	85	10	10	10	-	-
9	60	8	8	6	-	2
10	95	16	11	7	4	-
11	85	9	5	4	1	-
Всего	885	140	117	90	9	18
(в среднем на донора)	80,4	12,7	10,6	8,1	0,8	1,6

У животных 2 группы, в общем, было определено 140 овуляций, или 12,7 на одно животное, и получено всего 117 эмбрионов, или 10,6 в среднем на донора, при этом общее и среднее на донора количество пригодных для трансплантации эмбрионов составило - 90 и 8,1; эмбрионов с дегенерированными формами или с остановкой развития - 9 и 0,8, и неоплодотворённых яйцеклеток - 18 и 1,6 в среднем на донора.

Таблица 7- Результативность эмбриосборов у коров-доноров 3 группы

Доноры номер по порядку	КИО	Кол-во ж.т	Получено эмбрионов	Пригодных эмбрионов (штук)	Эмбрионов дегенерированных и с остановкой развития (штук)	Неоплодотворенных яйцеклеток (штук)
1	30	8	7	-	1	6
2	65	11	9	4	-	5
3	60	14	14	1	-	13
4	45	9	9	3	1	5
5	55	7	7	-	1	6
6	45	6	6	1	-	5
7	60	15	12	5	3	4
8	60	10	10	8	-	2
9	45	8	7	-	-	7
10	70	17	17	12	-	5
11	35	7	7	-	3	4
Всего	570	112	105	34	9	62
(в среднем на донора)	51,8	10,2	9,5	3,1	0,8	5,6

От животных 3 группы было получено 105 эмбрионов, или 9,5 на одного донора в среднем, при этом общее количество овуляции составило 112, или 10,2 на одну корову в среднем. Количественно- качественный состав при этом распределился в следующих соотношениях: пригодных для трансплантации эмбрионов - всего 34 штуки, в среднем на донора 3,1; эмбрионов с дегенерированными формами или с остановкой развития – всего 9 штук, в среднем- 0,8; неоплодотворённых яйцеклеток – всего 62 штуки, что составило в среднем по выборке на донора 5,6.

Для определения группы с лучшими показателями эмбрипродуктивности был проведен анализ общих результатов эмбриосборов в исследуемых группах (таблица 8).

Таблица 8- Сравнительный анализ результатов эмбриопродуктивности у коров-доноров эмбрионов

Показатели	Группы коров-доноров		
	Группа 1, период охоты 24-48 часов	Группа 2, период охоты 48-72 часа	Группа 3, период охоты >72 часов.
Исследовано коров-доноров, гол.	12	11	11
КИО в среднем у донора в группе	50,4	80,4	51,8
Общее число овуляций в группе	106	140	112
Получено зародышей всего в группе	90	117	105
Эмбрионов пригодных всего в группе	43	90	34
- в % от общего числа	47,8*	76,9*	32,3*
Эмбрионов дегенерированных всего в группе	39	9	9
- в % от общего числа	43,3**	7,6**	8,5
яйцеклеток всего в группе	8	18	62
- в % от общего числа	8,9	15,3***	59,0***
Оплодотворяемость яйцеклеток, %	91,1	84,7	41,0

*, **, *** $p < 0,001$

Процентное соотношение общего количества пригодных эмбрионов от общего количества полученных в группах было следующим – 1 группа- 47,8%; 2 группа -76,9%; 3 группа -32,3%, при этом достоверная разница этого показателя группы 2 относительно группы 1 и группы 3 была $p < 0,001$. При анализе относительного количества дегенерированных эмбрионов отмечалось их достоверное уменьшение ($p < 0,001$) в группе 2 в сравнении с группой 1. В тоже время в группе 2 также отмечалось достоверное уменьшение относительного количества неоплодотворенных яйцеклеток ($p < 0,001$) в сравнении с группой 3.

Таким образом, КИО является интегральным показателем полноценности проявления половой охоты и прогнозирования эмбриопродуктивности коров-доноров и может быть использован в

качестве критерия оценки успешности результатов репродуктивных биотехнологий на практике.

Литература:

1. Второй доклад ФАО о состоянии мировых генетических ресурсов для производства продукции и сельского хозяйства. Часть 3, секция репродуктивной и молекулярной биотехнологии.- 2015.- С. 309-325.
2. Гордон А., Контроль воспроизводства сельскохозяйственных животных. – Москва ВО «Агропромиздат», 1988. – С. 93-94.
3. Завертяев Б.П. Биотехнология в воспроизводстве крупного рогатого скота. - Л.: Агропромиздат, 1989. – С. 76-86.
4. Кононов В.П., Черных В.Я. Биотехника репродукции в молочном скотоводстве – Москва, 2009. – С. 277-313.
5. Косовский Г.Ю. Клеточные и геномные технологии в повышении эффективности животноводства. – Москва, 2015 – С. 5-6.
6. Пат. 156768 Российская Федерация, МПК А61D19/00. Устройство, обеспечивающее непрерывность циклов циркуляции промывочной жидкости при проведении процедуры вымывания эмбрионов из матки животного с использованием системы для нехирургического извлечения эмбрионов с замкнутым контуром [Текст] / Косовский Г. Ю., Попов Д.В., Бригида А.В. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ).— № 2015131972/13; заявл. 31.07.15; опубл. 20.11.15, Бюл. № 32 .— 2 с.: ил.
7. Пат. 160215 Российская Федерация, МПК А61D19/00. Трехканальный катетер, предназначенный для нехирургического извлечения эмбрионов у животных, со спиральным дистальным концом подающего канала [Текст] / Косовский Г. Ю., Попов Д.В., Бригида А.В. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ).— № 2015138769/13; заявл. 11.09.15 ; опубл. 10.03.16, Бюл. № 7 .— 2 с.: ил.
8. Пат. 160216 Российская Федерация, МПК А61D19/00. Трехканальный катетер для нехирургического извлечения эмбрионов у животных [Текст] / Косовский Г. Ю., Попов Д.В., Бригида А.В. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2015138768/13; заявл. 11.09.15 ; опубл. 10.03.16, Бюл. № 7 . — 2 с. : ил.
9. Пат. 156767 Российская Федерация, МПК А61D9/00. Установка для нехирургического извлечения эмбрионов у животных [Текст] / Косовский Г. Ю., Попов Д.В., Бригида А.В. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — №2015131973/13; заявл. 31.07.15 ; опубл. 20.11.15, Бюл. № 32 . — 2 с. : ил.
10. Пат. 153867 Российская Федерация, МПК А61D19/02. Устройство для сбора эмбрионов животных [Текст] / Косовский Г. Ю., Попов Д.В., Бригида А.В. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных

- биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — №2015116725/13; заявл. 30.04.15 ; опубл. 10.08.15, Бюл. № 22 .— 2 с.: ил.
11. Полянцев Н.И., Афанасьев А.И. Технология воспроизводства крупного рогатого скота. – Донской государственный аграрный университет. – пос. Персиановский, 2010. –С. 70-79.
 12. Пташинская М. Краткое руководство по репродукции животных. - Intervet International BV. 2009 г. - С. 146-149.
 13. Тореханов А.А., Исабеков К.И., Алмантай Ж.Т., Батырханов М.С., Мальчевский А. Ю., Асанов Ж.Б. Руководство по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. – Астана – 2010 г. – 18 с.
 14. Assessment of Mammalian Embryo Quality: Invasive and non-invasive techniques-2002.- P. 31-54.
 15. Bó G.A., Mapletoft R.J., Evaluation and classification of bovine embryos. Anim. Reprod., v.10, n.3, Jul./Sept. 2013 P.344-348
 16. Bó G.A., Mapletoft R.J., Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. Theriogenology. 2014 Jan 1;81(1): P. 38-48.
 17. Mapletoft R.J., Bó G.A. Innovative strategies for superovulation in cattle /Anim. Reprod.,v.10, n.3, Jul./Sept. 2013 P.174-179.

References:

1. Vtoroj doklad FAO o sostojanii mirovyh geneticheskikh resursov dlja proizvodstva produkcii i sel'skogo hozjajstva. Chast' 3, sekcija reproduktivnoj i molekularnoj biotehnologii.- 2015.- S. 309-325.
2. Gordon A., Kontrol' vosпроизводства sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh. – Moskva VO «Agropromizdat», 1988. – S. 93-94.
3. Zavertjaev B.P. Biotehnologija v vosпроизводстве крупного рогатого скота. - L.: Agropromizdat, 1989. – S. 76-86.
4. Kononov V.P., Chernyh V.Ja. Biotehnika reprodukcii v molochnom skotovodstve – Moskva, 2009. –S. 277-313
5. Kosovskij G.Ju. Kletochnye i genomnye tehnologii v povyshenii jeffektivnosti zhivotnovodstva. – Moskva 2015 – S.5-6.
6. Pat. 156768 Rossijskaja Federacija, MPK A61D19/00.Ustrojstvo, obespechivajushhee nepreryvnost' ciklov cirkuljacii promyvnochnoj zhidkosti pri provedenii procedury vymyvanija jembrionov iz matki zhivotnogo s ispol'zovaniem sistemy dlja nehirurgicheskogo izvlechenija jembrionov s zamknutym konturom [Tekst] / Kosovskij G. Ju., Popov D.V., Brigida A.V. ; zajavitel' i patentoobladatel' Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe nauchnoe uchrezhdenie "Centr jeksperimental'noj jembrilogii i reproduktivnyh biotehnologij" (FGBNU CJeJeRB).— № 2015131972/13; zajavl. 31.07.15; opubl. 20.11.15, Bjul. № 32 .— 2 s.: il.
7. Pat. 160215 Rossijskaja Federacija, MPK A61D19/00. Trehkanal'nyj kateter, prednaznachennyj dlja nehirurgicheskogo izvlechenija jembrionov u zhivotnyh, co spiral'nym distal'nym koncom podajushhego kanala [Tekst] / Kosovskij G. Ju., Popov D.V., Brigida A.V. ; zajavitel' i patentoobladatel' Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe nauchnoe uchrezhdenie "Centr jeksperimental'noj jembrilogii i reproduktivnyh biotehnologij" (FGBNU CJeJeRB).— № 2015138769/13; zajavl. 11.09.15 ; opubl. 10.03.16, Bjul. № 7 .— 2 s.: il.
8. Pat. 160216 Rossijskaja Federacija, MPK A61D19/00. Trehkanal'nyj kateter dlja nehirurgicheskogo izvlechenija jembrionov u zhivotnyh [Tekst] / Kosovskij G. Ju.,

- Popov D.V., Brigida A.V. ; заявитель i патентообладатель Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe nauchnoe uchrezhdenie "Centr jeksperimental'noj jembriologii i reproduktivnyh biotehnologij" (FGBNU CJeJeRB). — № 2015138768/13; zajavl. 11.09.15 ; opubl. 10.03.16, Bjul. № 7 . — 2 s. : il.
9. Pat. 156767 Rossijskaja Federacija, MPK A61D9/00. Ustanovka dlja nehirurgicheskogo izvlechenija jembrionov u zhivotnyh [Tekst] / Kosovskij G. Ju., Popov D.V., Brigida A.V. ; заявитель i патентообладатель Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe nauchnoe uchrezhdenie "Centr jeksperimental'noj jembriologii i reproduktivnyh biotehnologij" (FGBNU CJeJeRB). — №2015131973/13; zajavl. 31.07.15 ; opubl. 20.11.15, Bjul. № 32 . — 2 s. : il.
 10. Pat. 153867 Rossijskaja Federacija, MPK A61D19/02. Ustrojstvo dlja sora jembrionov zhivotnyh [Tekst] / Kosovskij G. Ju., Popov D.V., Brigida A.V. ; заявитель i патентообладатель Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe nauchnoe uchrezhdenie "Centr jeksperimental'noj jembriologii i reproduktivnyh biotehnologij" (FGBNU CJeJeRB). — №2015116725/13; zajavl. 30.04.15 ; opubl. 10.08.15, Bjul. № 22 . — 2 s.: il.
 11. Poljancev N.I., Afanas'ev A.I. Tehnologija vosproizvodstva krupnogo rogatogo skota. – Donskoj gosudarstvennyj agrarnyj universitet. – pos. Persianovskij, 2010. –S. 70-79.
 12. Ptashinskaja M. Kratkoe rukovodstvo po reprodukcii zhivotnyh. - Intervet International BV. 2009 g. - S. 146-149.
 13. Torehanov A.A., Isabekov K.I., Almantaj Zh.T., Batyrhanov M.S., Mal'chevskij A. Ju., Asanov Zh.B. Rukovodstvo po transplantacii jembrionov krupnogo rogatogo skota. – Astana – 2010 g. – 18 s.
 14. Assessment of Mammalian Embryo Quality: Invasive and non-invasive techniques-2002.- P. 31-54.
 15. Bó G.A., Mapletoft R.J., Evaluation and classification of bovine embryos. Anim. Reprod., v.10, n.3, Jul./Sept. 2013 P.344-348
 16. Bó G.A., Mapletoft R.J., Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. Theriogenology. 2014 Jan 1;81(1): P. 38-48.
 17. Mapletoft R.J., Bó G.A. Innovative strategies for superovulation in cattle /Anim. Reprod., v.10, n.3, Jul./Sept. 2013 P.174-179.