

В. М. Шириев, А. Л. Аминова, А. В. Панкратова, Ш. Н. Насибов

Эмбриопродуктивность коров с различным физиологическим статусом

Аннотация. Эмбрионы от здоровых коров со средней молочной продуктивностью обладают наилучшим качеством и показателями жизнеспособности. От высокопродуктивных и проблемных коров-доноров оптимальные результаты криоконсервирования эмбрионов могут быть получены только традиционной технологией замораживания. Качество и эффективность криоконсервирования эмбрионов от коров со средней продуктивностью не зависит от технологического метода криоконсервирования. В дополнение визуальным методам оценки качества существует методика определения жизнеспособности эмбрионов методом культивирования. Данный метод культивирования применяется как для свежеполученных, так и для оттаянных эмбрионов крупного рогатого скота. По результатам наших исследований выявлена необходимость подтверждать жизнеспособность оттаянных эмбрионов методом культивации, что на 1/3 сократит затраты, обусловленные возможностью трансплантации нежизнеспособных эмбрионов.

Ключевые слова: жизнеспособность эмбрионов, суперовуляция, коровы-доноры, эмбрионы, криоконсервирование.

Авторы:

Шириев Вакиль Миргалиевич — доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», Уфа, Россия, 450059, г. Уфа, ул. Р. Зорге, 19;

Аминова Альбина Ленаровна — кандидат биологических наук, ученый секретарь, старший научный сотрудник отдела интенсивных технологий в животноводстве, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», Уфа, Россия, 450059, г. Уфа, ул. Р. Зорге, 19, e-mail: albina_ufa@list.ru;

Панкратова Анна Вадимовна — кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель кафедры диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина», г. Москва, Россия, 109473, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23, e-mail: 1234567abcdefg@mail.ru;

Насибов Шаиг Насир оглы — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории стрессоустойчивости растений, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва, Россия, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42.

Введение. Целью наших исследований являлось определение зависимости в сравнительном аспекте качества эмбрионов от физиологического статуса организма и уровня продуктивности. С учетом этих показателей необходимо определить эффективность технологических особенностей разных методик криоконсервирования эмбрионов.

Материалы и методы исследований. Работы проведены в Баймакском ОПХ Башкирского НИИ-ИСХ и сельскохозяйственном предприятии «Пугачёвское» Фёдоровского района Республики Башкортостан в период 2004–2007 гг.

Объектом исследований были коровы симментальской породы, находящиеся на 4–5 лактации. Условия кормления, содержания и режимы эксплуатации соответствовали общепринятым зоотехническим нормам.

Для проведения опытов отбирали здоровых, а также проблемных коров. Животных дифференцировали на высокопродуктивных (5 тыс. кг молока за лактацию) и среднепродуктивных (менее 5 тыс. кг молока за лактацию). Гормональную обработку коров для индуцирования суперовуляции, осеменение, извлечение и оценку эмбрионов проводили по методикам и инструкциям ВГНИИЖ [1, 2]. В целом, исследования проводились в соответствии с методикой аналогичных исследований, проведенных на черно-пестрой породе коров В. М. Шириевым и др. [3, 4].

Извлечение и оценку качества полученных эмбрионов проводили по морфологическим признакам стадии развития, распределяя по категориям согласно 5-ти балльной оценочной шкале: 1 — не пригодные для трансплантации; 2 — условно

годные; 3 — удовлетворительные; 4 — хорошие; 5 — отличные эмбрионы.

Дополнительный контроль жизнеспособности эмбрионов осуществляли согласно «Госстандарту на эмбрионы крупного рогатого скота» методом культивирования [2–5].

Согласно общепринятым инструкциям и методическим указаниям проводили криоконсервацию и дальнейшее оттаивание эмбрионов по традиционной и ускоренной технологии, а также методом витрификации (замораживание в парах азота). При использовании традиционного метода эмбрионы насыщали глицерином концентрацией 1,4 М и охлаждали от 20 до -38°C, при ускоренном — глицерин брали 1 М концентрации и охлаждали от -5,8 до -35°C. Так же испытывали дополнительно в качестве криопротектора этиленгликоль в концентрации 1,5 М. Криоконсервирование проводили методом витрификации [6; 7].

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований доказали, что эффективность сывроточного гонадотропина ниже, чем при использовании гипофизарного относительно количественных показателей суперовуляторной реакции (табл. 1).

Тем не менее, на качество эмбриопродуктивности оказывает значительное влияние физиологический статус организма коровы-донора. От здоровых коров со средней молочной продуктивностью эмбрионов получили больше с высокой оценкой качества, в то же время от здоровых коров с высокой молочной продуктивностью и от проблемных коров эмбрионов хорошего и отличного качества получили значительно меньше.

При морфологической оценке полученных эмбрионов выяснили, что наибольшая доля эмбрионов от коров со средним уровнем продуктивности соответствует стадии развития эмбриона на день его извлечения. От таких коров получили хорошего и отличного качества 68,2% эмбрионов, плохого качества и дегенерированных — 22% и неоплодотворенных яйцеклеток — 9,8% (табл. 2).

Высокопродуктивные коровы и проблемные коровы, в конечном итоге, дали хороших и отличных эмбрионов меньше на 12,5 и 17,2% и больше, плохих и дегенерированных на 6,4 и 2,8%, соответственно. Оплодотворяемость у коров со средней продуктивностью была выше на 6,0 — 14,4%.

В серии других опытов было установлено, что при извлечении эмбрионов от среднепродуктив-

Таблица 1. Эффективность различных схем гормональной обработки по группам животных

		Схема гормональной обработки					
		Сывороточный гонадотропин			Гипофизарный гонадотропин		
		Коровы по состоянию репродуктивной системы и продуктивности					
		Высокая продуктив- ность	Средняя продуктив- ность	Проблемные без учета продуктив- ности	Высокая продуктив- ность	Средняя продуктив- ность	Проблемные без учета продуктив- ности
Общее количество коров, п		63	81	67	34	52	94
% оплодотворения		66,7	85,2	65,7	79,4	92,3	77,7
Качество эм- брионов, %	Отличные	8,7	55,1	9,4	12,1	53,4	12,0
	Хорошие	8,7	8,4	12,4	25,2	10,8	25,6
	Удовлетво- рительные и дегенери- рованные	82,6	36,5	78,2	62,7	35,8	62,4

Таблица 2. Влияние физиологического статуса коров-доноров на качество эмбрионов

Физиологический статус коров-доноров	Общее количество эмбрионов, п	Качество эмбрионов		
		Хорошие и отличные п — %	Плохие и дегенерированные п — %	Неоплодотворенные яйцеклетки п — %
Высокая продуктивность	253	153—55,7	72—28,5	28—15,8
Средняя продуктивность	468	319—68,2	103—22,0	46—9,8
Проблемные коровы без учета продуктивности	384	196—51,0	95—24,8	93—24,2

ных коров-доноров более половины эмбрионов находились на стадии поздней морулы и ранней бластоцисты (таб. 3).

Эмбрионы от этой категории коров на стадиях от ранней морулы до поздней бластоцисты составляли 97,6% от числа эмбрионов, полученных от коров со средним уровнем продуктивности. Эмбрионы, отстающие в развитии, составили 2,5%. У коров с высокой продуктивностью и у проблемных коров, отстающих в развитии эмбрионов, оказалось 18,5% и 13,7%, соответственно. На этом фоне четко видно, что имеет место отставание в скорости роста, как для морул, так и для бластоцист. На основании этих данных можно сделать вывод, что у высокопродуктивных коров

и у проблемных коров наблюдается тенденция к снижению скорости процесса эмбриогенеза.

Серия опытов по культивированию в течение суток эмбрионов хорошего и отличного качества продемонстрировала, что во всех случаях культивирования ранних морул наблюдался наименьший процент числа эмбрионов продолживших свое развитие в условиях культуральной среды. В то же время, по мере увеличения возраста эмбриона, то есть стадии его развития, возрастала и его жизнеспособность в условиях культивирования (табл. 4).

Таким образом, можно утверждать, что метод культивирования довольно достоверно подтверждает морфологическую оценку жизнеспособности

Таблица 3. Соотношение извлеченных эмбрионов на разных стадиях развития

Эмбрионы	Высокопродуктивные коровы-доноры		Среднепродуктивные коровы-доноры		Проблемные коровы без учета продуктивности	
	п	%	п	%	п	%
2-клеточные	4,7	7,4	0,6	0,7	6,1	7,0
4-клеточные	3,6	5,7	0,5	0,6	1,9	2,2
8-клеточные	2,4	3,8	0,5	0,6	2,8	3,2
16-клеточные	1,0	1,6	0,5	0,6	1,1	1,3
Ранняя морула	23,1	36,3	14,2	16,5	38,7	44,5
Поздняя морула	18,9	29,7	39,3	45,6	29,1	33,4
Ранняя бластоциста	8,9	14,0	19,6	22,8	6,0	6,9
Поздняя бластоциста	1,1	1,7	10,9	12,7	1,3	1,5

Таблица 4. Результаты культивирования эмбрионов в зависимости от физиологического состояния коров-доноров

				Высокопро- дуктивные ко- ровы-доноры	Среднепро- дуктивных ко- ровы-доноры	Проблемные коровы без учета продук- тивности
Эмбрионы в зависимости от стадии развития	Ранние морулы	Поставлено на культивирование	п	73	65	82
		Продолжили развитие	п	39	59	39
			%	53,4	90,8	47,6
	Поздние морулы	Поставлено на культивирование	п	28	91	85
		Продолжили развитие	п	18	87	58
			%	64,3	95,6	68,2
	Ранние бластоци- сты	Поставлено на культивирование	п	42	45	61
		Продолжили развитие	п	29	42	42
			%	69,0	93,3	68,9
	Поздние бластоци- сты	Поставлено на культивирование	п	28	45	43
		Продолжили развитие	п	23	43	36
			%	82,1	95,6	83,7
ВСЕГО		Поставлено на культивирование	п	171	246	271
		Продолжили развитие	п	109	231	175
			%	63,7	93,9	64,6

эмбрионов, полученных от коров со средней продуктивностью. Но такую тенденцию не прослеживали у эмбрионов от высокопродуктивных коров и проблемных коров. Эмбрионы от данной категории коров лишь в 63,7–64,6% случаев оказались жизнеспособными, то есть продолжили свое развитие при культивировании. Обращая внимание на довольно большой процент эмбрионов, не продолживших свое развитие при культивировании, можно сделать вывод, что такие эмбрионы, безусловно, имели дефекты развития, которые по каким-либо причинам оказалось невозможно зафиксировать при оценке по морфологическим признакам. Данное обстоятельство доказывает негативную роль влияния специфики организма коровы на степень жизнеспособности эмбрионов.

Дальнейшие исследования влияния физиологического статуса коров-доноров на качество эмбрионов выяснили, что эмбрионы, полученные от коров-доноров со средним уровнем молочной продуктивности, могут быть подвергнуты различным методам криоконсервации с большей или меньшей степенью потери их качества (таб. 5). При этом выбор методики диктуется исключительно удобством применения той или иной технологии и наличием эмбрионального материала, и нет необходимости усложнять технологию криоконсервации под предлогом повышения ее эффективности.

При работе с эмбрионами, полученными от высокопродуктивных коров и проблемных ко-

ров, необходимо ограничиваться традиционными методами криоконсервации. Это связано с тем, что применение упрощенных методов приводит к снижению эффективности до 40% в сравнении с результатами традиционной технологии.

При культивировании оттаянных эмбрионов (в течение 24 часов) в зависимости от их качества выяснилось, что наименьшей жизнеспособностью обладали эмбрионы с удовлетворительной оценкой качества. В то же время эмбрионы с хорошей и отличной оценкой показали увеличенную жизнеспособность (таб. 6).

При оценке жизнеспособности эмбрионов (как свежеполученных, так и оттаянных) по морфологическим признакам и по результатам культивирования прослеживается определенная закономерность — жизнеспособность эмбрионов, полученных от коров со средней молочной продуктивностью, равноценно подтверждалась как по морфологическим параметрам, так и по результатам культивирования. Подобной закономерности в результатах этих же методов оценки жизнеспособности эмбрионов от коров с высокой молочной продуктивностью и проблемных коров не прослеживается. При этом лишь от 48 до 65% эмбрионов с оценкой от удовлетворительной до отличной, полученные от высокопродуктивных коров и проблемных коров, продолжили развитие в процессе культивирования, чем подтвердили свою жизнеспособность.

Выводы. Следует отметить, что при исследовании довольно большого количества эмбрионов

Таблица 5. Качество эмбрионов в зависимости от технологии криоконсервирования и физиологического состояния коров-доноров

					Высокопродук- тивные коровы- доноры	Среднепродук- тивных коровы- доноры	Проблемные коровы без учета продуктивности
Криопротекторы	Глицерин	1,0 М	Заморожено	п	83	210	368
			Пригодные к пересадке после оттаивания	п	46	105	165
				%	55,4	50,0	44,8
		1.4 М	Заморожено	п	95	210	350
			Пригодные к пересадке после оттаивания	п	81	100	263
				%	85,3	47,6	75,1
	Этиленгли- коль	Заморожено	п	35	285	310	
		Пригодные к пересадке после оттаивания	п	18	275	133	
			%	51,4	96,5	42,9	
	Витрификация (в газообразном азоте)		Заморожено	п	28	302	360
			Пригодные к пересадке после оттаивания	п	13	248	145
				%	46,4	82,1	40,3

Таблица 6. Качество оттаянных эмбрионов в зависимости от условий культивирования и физиологического состояния коров-доноров

Качество эмбрионов			Высокопродуктивные коровы-доноры	Среднепродуктивных коровы-доноры	Проблемные коровы без учета продуктивности
Отличное (5 баллов)	Поставлено на культивирование	n	63	48	69
	Продолжили развитие	n	41	45	40
		%	65,1	93,8	58,0
Хорошее (4 балла)	Поставлено на культивирование	n	35	58	52
	Продолжили развитие	n	19	55	33
		%	54,3	94,8	63,5
Удовлетворительное (3 балла)	Поставлено на культивирование	n	38	54	61
	Продолжили развитие	n	20	48	29
		%	52,6	88,9	47,5

различных стадий развития и при различных условиях манипуляции с ними, наблюдается определенный процент эмбрионов, не продолживших свое развитие при культивировании. При этом такие эмбрионы имеются во всех стадийных подгруппах и от коров с различным физиологическим статусом. Следует также отметить, что наибольшее количество эмбрионов с пониженными показателями жизнеспособности наблюдалось на ранних стадиях развития. В связи с этим имеет смысл предположить, что снижение жизнеспособности обусловлено не только морфологическим дефектами эмбрионов, но также влиянием условий технологических этапов криоконсервирования и культивирования эмбрионов на различных стадиях их развития. При этом, чем меньше стадия развития (ранняя и поздняя морула), тем сильнее негативное влияние на жизнеспособность эмбрионов не зависимо от физиологического статуса коров-доноров.

В итоге следует признать, что наиболее доступные методы оценки качества эмбрионов по морфологическим признакам не являются совершенными. При использовании данного метода нередко остаются незамеченными некоторые изменения, которые возникают у эмбрионов удовлетворительного, хорошего и отличного качества по морфологической оценке, полученных от высокопродуктивных коров и проблемных коров. Тем не менее, эти нарушения приводят к значительному снижению показателей жизнеспособности, что достоверно определяет оценка их по результатам культивирования. Эти результаты доказывают необходимость включения в методики транс-

плантации эмбрионов метода культивирования как контрольного метода проверки качества эмбрионов от высокопродуктивных коров и проблемных коров. Это позволяет выявить нежизнеспособные эмбрионы и исключить их из технологического цикла трансплантации и, тем самым, сократить затраты на трансплантацию заведомо некачественных эмбрионов, обуславливающих конечные отрицательные показатели.

Таким образом, при выборе технологических методов криоконсервирования эмбрионов необходимо учитывать физиологический статус коров-доноров. Эмбрионы, полученные от высокопродуктивных коров и проблемных коров, сохраняют наибольший процент жизнеспособности после оттаивания при использовании традиционных методов криоконсервирования с использованием в качестве криопротектора 1,4М глицерин, охлаждение — многоступенчатое постепенное от +20°C до -38°C с последующим помещением в жидкий азот. Эффективность криоконсервирования эмбрионов от коров со средней продуктивностью не зависит от технологического метода криоконсервирования. Результаты наших исследований подтверждают данные, полученные другими исследователями [3; 8; 9; 10; 11], которые проводились в аналогичных условиях на коровах черно-пестрой породы и коровах мясных пород. Обнаруженные нами закономерности на коровах симментальской породы носят общий характер, правомочны и для других молочных и мясных пород и могут быть основой дальнейшей работы в направлении усовершенствования технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота.

Литература

1. Инструкция по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / Н. И. Сергеев, В. Л. Мадисон, О. К. Смирнов // М., 1984. — 136 с.
2. Инструкция по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота // Росагропром СССР. ВАСХ-НИЛ, М., 1986. — 32 с.
3. Титова В. А. Эффективность технологических элементов криоконсервирования эмбрионов, полученных от коров-доноров с различным физиологическим статусом / В. А. Титова, Ф. Н. Насибов, С. Н. Хилькевич, Е. У. Байтлесов, Н. И. Сергеев, Е. А. Тяпугин // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. — 2006. — № 2. — С. 33–35.
4. Шириев В. М. Физиологическая оценка и биотехника размножения в скотоводстве: дис. д-ра биол. наук. Дубровицы: ВИЖ, 2000.
5. Методические рекомендации по оценке качества эмбрионов крупного рогатого скота при трансплантации эмбрионов // М., 1986. — 32 с.
6. Мальцева М. В. Криоконсервирование эмбрионов в пастках с применением сахарозы / М. В. Мальцева // Зоотехния. — 1988. — №7. — С. 41–42.
7. Методические рекомендации по криоконсервированию эмбрионов крупного рогатого скота, овец и кроликов // Дубровицы, 1987. — 24 с.
8. Анзоров В. А., Хилькевич С. Н., Титова В. А., Шириев В. М., Аминова А. Л., Мишуковская Г. С. Результаты криоконсервирования эмбрионов, полученных от коров-доноров с различным физиологическим статусом // Сб. трудов «Актуальные проблемы научно-инновационной и внедренческой деятельности в АПК». п. Первомайский, 2005. — С. 144.
9. Анзоров В. А., Хилькевич С. Н., Титова В. А., Шириев В. М., Аминова А. Л., Мишуковская Г. С. Качество эмбрионов, получаемых от здоровых и проблемных коров-доноров с разным уровнем молочной продуктивности // Сб. трудов «Актуальные проблемы научно-инновационной и внедренческой деятельности в АПК». п. Первомайский, 2005. — С. 147.
10. Насибов Ф. Н. Жизнеспособность эмбрионов в зависимости от физиологического статуса коров-доноров / Ф. Н. Насибов, Е. У. Байтлесов, В. А. Титова, С. Н. Хилькевич, Е. А. Тяпугин // Вестник ветеринарии. — 2007. — № 42 (3/2007). — С. 36–44.
11. Тяпугин Е. А. Качество эмбрионов, получаемых от здоровых, проблемных и высокопродуктивных коров-доноров / Е. А. Тяпугин, С. Н. Хилькевич, Е. У. Байтлесов, В. А. Титова, Ф. Н. Насибов // Аграрная наука. — 2007. — № 5. — С. 29–32.

Shiriev V., Aminova A., Pankratova A., Nasibov S.

Embryologist of cows with different physiological status

Abstract. Embryos from healthy cows with an average milk production have best quality and viability. The best results of cryopreservation of embryos from high-yield, distressed cows-donors can only be obtained by the traditional technology of freezing. The quality and efficiency of cryopreservation of embryos from cows with an average productivity does not depend on the technological method of cryopreservation. In addition to visual techniques of quality assessment, there is a method of determining the viability of embryos by the method of cultivation. This cultivation method is used for melted embryos of cattle. According to the results of our studies, the need to confirm the viability of thawed embryos by the cultivation method is revealed, which by 1/3 will reduce the costs resulting from the possibility of transplantation of nonviable embryos.

Key words: viability of embryos, superovulation, cows donor embryos, cryopreservation.

Authors:

Shiriev V. — Dr. Habil. (Biol. Sci.), Professor, Director, Federal state budgetary scientific institution «Bashkir research Institute of agriculture», Ufa, Russia, 450059, Ufa, R. Zorge str., 19;

Aminova A. — PhD (Biol. Sci.), scientific Secretary, senior researcher of the Department of intensive technologies in animal breeding, Federal state budgetary scientific institution «Bashkir research Institute of agriculture», Ufa, Russia, 450059, Ufa, R. Zorge str.; E-mail: albina_ufa@list.ru;

Pankratova A. — PhD (Vet. Sci.), senior lecturer of the Department of disease diagnosis, therapy, obstetrics and animal reproduction, Federal state budgetary educational institution of higher professional education «Moscow state Academy of veterinary medicine and biotechnology of name K. I. Skryabin», Moscow, Russia, 109473, Moscow, str. Akademika Skryabina, d. 23; E-mail: 1234567abcdefgh@mail.ru;

Nasibov S. — Dr. Habil. (Biol. Sci.), leading researcher of the laboratory of plant resistance to stress, Federal state budgetary scientific institution «all-Russian research Institute of agricultural biotechnology», Moscow, Russia, 127550, Moscow, Timiryazevskaya St. 42.

References

1. Instrukcija po transplantaciji jembrionov krupnogo rogatogo skota / N. I. Sergeev, V. L. Madison, O. K. Smirnov // M., 1984. — 136 s.
2. Instrukcija po transplantaciji jembrionov krupnogo rogatogo skota // Rosagroprom SSSR. VASHNIL, M., 1986. — 32 s.
3. Titova V. A. Jefferktivnost' tehnologicheskikh jelementov kriokonservirovanija jembrionov, poluchennyh ot korov-donorov s razlichnym fiziologicheskim statusom / V. A. Titova, F. N. Nasibov, S. N. Hil'kevich, E. U. Bajtlesov, N. I. Sergeev, E. A. Tjapugin // Doklady Rossijskoj akademii sel'skohozjajstvennyh nauk. — 2006. — № 2. — S. 33–35.
4. Shiriev V.M. Fiziologicheskaja ocenka i biotekhnika razmnozhenija v skotovodstve: dis. d-ra biol. nauk. Dubrovicy: VIZh, 2000.
5. Metodicheskie rekomendacii po ocenke kachestva jembrionov krupnogo rogatogo skota pri transplantaciji jembrionov // M., 1986. — 32 s.
6. Mal'ceva M. V. Kriokonservirovanie jembrionov v paettah s primeneniem saharozy / M. V. Mal'ceva // Zootehnija. — 1988. — № 7. — S. 41–42.
7. Metodicheskie rekomendacii po kriokonservirovaniju jembrionov krupnogo rogatogo skota, ovec i krolikov // Dubrovicy, 1987. — 24 s.
8. Anzorov V. A., Hil'kevich S. N., Titova V. A., Shiriev V. M., Aminova A. L., Mishukovskaja G. S. Rezul'taty kriokonservirovanija jembrionov, poluchennyh ot korov-donorov s razlichnym fiziologicheskim statusom // Sb. trudov «Aktual'nye problemy nauchno-innovacionnoj i vnedrencheskoj dejatel'nosti v APK». p. Pervomajskij, 2005. — S. 144.
9. Anzorov V. A., Hil'kevich S. N., Titova V. A., Shiriev V. M., Aminova A. L., Mishukovskaja G. S. Kachestvo jembrionov, poluchaemyh ot zdorovyh i problemnyh korov-donorov s raznym urovnem molochnoj produktivnosti // Sb. trudov «Aktual'nye problemy nauchno-innovacionnoj i vnedrencheskoj dejatel'nosti v APK». p. Pervomajskij, 2005. — S. 147.
10. Nasibov F. N. Zhiznesposobnost' jembrionov v zavisimosti ot fiziologicheskogo statusa korov-donorov / F. N. Nasibov, E. U. Bajtlesov, V. A. Titova, S. N. Hil'kevich, E. A. Tjapugin // Vestnik veterinarii. — 2007. — № 42 (3/2007). — S. 36–44.
11. Tjapugin E. A. Kachestvo jembrionov, poluchaemyh ot zdorovyh, problemnyh i vysokoproduktivnyh korov-donorov / E. A. Tjapugin, S. N. Hil'kevich, E. U. Bajtlesov, V. A. Titova, F. N. Nasibov // Agrarnaja nauka. — 2007. — № 5. — S. 29–32.