

УДК 636.2.082.453:591.463.1

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СЕКСИРОВАННОЙ И ТРАДИЦИОННОЙ СПЕРМЫ ГОЛШТИНСКИХ БЫКОВ

**И. В. ГОНЧАРЕНКО, Ю. С. ПЕЛЫХ**

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины (Киев, Украина)*

*igoncharenko@list.ru*

*Изложены результаты сравнительной оценки сексированной и традиционной спермы одних и тех же быков голштинской породы после размораживания с учетом: концентрации сперматозоидов в 1 мл, их подвижности, выживаемости, динамических характеристик движения, интактности акросомы, уровня микробной контаминации.*

*Установлено, что подвижность и выживаемость сексированных сперматозоидов на 15–20% ниже по сравнению с аналогичными показателями традиционной спермы. Независимо от разделения спермы по полу, наивысшей активностью обладали сперматозоиды быка Vioris Sleeman HOCANM7817774. Это свидетельствует о возможности отбора быков по данному показателю качества спермы.*

*Полученные экспериментальные результаты свидетельствуют о необходимости в дальнейшем совершенствовать технологию замораживания-оттаивания сексированной спермы быков-производителей, а для лабораторий селекционных центров и племенных предприятий Украины осуществлять подготовку специалистов соответствующей квалификации.*

**Ключевые слова:** быки голштинской породы, сексированная и традиционная сперма, подвижность и выживаемость сперматозоидов, динамические характеристики движения спермиев

## COMPARATIVE ASSESSMENT OF SEXED AND TRADITIONAL SEMEN OF HOLSTEIN BULLS

**I. V. Goncharenko, Yu. S. Pelykh**

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine)*

*The results of the comparative analysis of traditional and sexed sperm of the same Holstein bulls after defreezing have been presented considering the concentration of spermatozoa in 1 ml, their motility, survival, the dynamic characteristics of movement, acrosome integrity (intactness), and level of microbial contamination.*

*It has been established that the motility and survival of the sexed sperm were lower by 15–20% compared with similar indicators of traditional sperm. Independently of sperm separation by the sex, the sperm of bull Vioris Sleeman HOCANM7817774 had the highest activity. This indicates the possibility of bull selection by this indicator of quality sperm.*

*The experimental results indicate necessity to improve the technology of freezing and thawing sexed bull sperm and training specialist's relevant qualifications for breeding centers laboratories and breeding enterprises of Ukraine.*

**Keywords: Holstein bulls (sires), sexed and traditional semen, spermatozoa motility and survival, dynamic characteristics of sperm movement**

## **ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА СЕКСОВАНОЇ ТА ТРАДИЦІЙНОЇ СПЕРМИ ГОЛШТИНСЬКИХ БУГАЇВ**

**І. В. Гончаренко, Ю. С. Пелих**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України (Київ, Україна)*

*Викладено результати порівняльної оцінки сексованої і традиційної сперми одних і тих самих бугаїв голштинської породи після розморожування з врахуванням: концентрації сперматозоїдів в 1 мл, їх рухливості, виживаності, динамічних характеристик руху, інтактності акросоми, рівня мікробної контамінації.*

*Встановлено, що рухливість та виживаність сексованих сперматозоїдів на 15–20% нижче порівняно з аналогічними показниками традиційної сперми. Незалежно від розділення сперми за статтю, найвищу активність мали сперматозоїди бугая Vioris Sleeman HOSANM7817774. Це свідчить про можливість відбору бугаїв за даним показником якості сперми.*

*Отримані експериментальні результати свідчать про необхідність в майбутньому вдосконалювати технологію заморожування-відтаювання сексованої сперми бугаїв-плідників, а для лабораторій селекційних центрів та племінних підприємств України здійснювати підготовку фахівців відповідної кваліфікації.*

**Ключові слова: бугаї голштинської породи, сексована і традиційна сперма, рухливість і виживаність сперматозоїдів, динамічні характеристики руху спермій**

**Введение.** Голштинская порода молочного скота характеризуется многими выдающимися качествами – по уровню удоев за лактацию и за период хозяйственного использования она занимает первые места. Её экстерьерно-конституциональный тип рассматривают как классический для специализированного молочного скота. Этот тип телосложения устойчиво наследуется при скрещивании, в т.ч. и вводимом, когда в улучшаемой породе скота удельная «кровность» по голштинцу не превышает 25%.

Молочная железа телок голштинской породы хорошо развита по величине и форме (чашеобразная и ваннообразная), а также по четвертям (в среднем, по 25% от объема). Вымя коров хорошо приспособлено к машинному доению, а его накопительная емкость позволяет получать высокие суточные удои (в т.ч. и за лактацию) при двукратном доении машинным способом. Перечень положительных признаков голштинских коров можно продолжить, если бы не ряд отрицательных моментов, которые наблюдаются при их разведении, в т.ч. и в развитых странах мира, а именно: короткий период хозяйственного использования (2-2,5 лактации) и пониженная плодовитость маточного поголовья (67–72% – в хозяйствах с интенсивно-индустриальной технологией) обуславливают необходимость разработки специальных селекционных программ, которые бы нивелировали указанные проблемы.

В среднем, в голштинских стадах получают по 70 телят на 100 коров в год, из которых телок будет 35 голов. При высокой интенсивности отбора – 30–33% фактически весьма сложно получить расширенное воспроизводство стада за счет собственных ресурсов. Поэтому приходится постоянно зависеть от импорта поголовья нетелей и телок [1].

Не следует забывать, что специализированная голштинская молочная порода скота была сформирована, в основном, при использовании матроклинного эффекта, т.е. с учетом

большого сходства потомков с материнским, а не с отцовским организмом, а особенность наследования обуславливалась еще и цитоплазмой яйцеклетки (в некоторых случаях определенные локусы обуславливались хромосомным импринтингом). Сегодняшняя селекция основывается на использовании наследственности самцов, что не всегда оптимально, особенно относительно качественных признаков.

Лишь сравнительно недавно наука разработала технологию и лабораторное оборудование для получения сексированной спермы быков-производителей и использования замороженно-оттаянной сексированной спермы. Производственная проверка подтвердила высокую эффективность разделения по полу (бычки, телочки) спермиев – до 92% [3, 6, 9]. Использование сексированной спермы производителей также резко повышает интенсивность отбора среди самок и самцов. Однако, высокая стоимость сексированной спермы и обоснованные сомнения ученых-животноводов и генетиков о биологической «безвредности» предложенной технологии в будущем, через 3–5 поколений полученного потомства, ещё надо проанализировать и обосновать. О механизме определения пола пока еще не накоплено достаточно информации в пределах поколений и популяции с учетом *равновесия генного действия* или *генного баланса*, согласно которому пол особи зависит от отношения числа X-хромосом к числу набора аутосом – А (у самцов отношение X/A меньше или равно 0,5, у самок – больше или равно 1,0). Кроме того экспериментально давно доказано, что пол потомства (мужской : женский) зависит не только от X или Y-хромосомы, но и от соотношения (баланса) X и Y-хромосом в тканях организма, как единого целого.

Результат дискуссии генетиков и селекционеров – сексированную сперму использовать в ограниченном масштабе и лишь после анализа полученного приплода в системе генераций F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> (дочери-внучки), принять научно-обоснованное решение.

Изложенные предпосылки позволяют принять обоснованное решение о целесообразности исследовать зоометрические показатели сексированной спермы быков согласно требований научных исследований. Поэтому нами были проведены исследования спермы от одних и тех же быков голштинской породы – натуральной и сексированной, – поставляемой в пайетах и предлагаемой к использованию в хозяйствах Украины.

**Материалы и методы исследований.** Оценку подвижности и морфологических характеристик сперматозоидов проводили в лаборатории криоконсервации ЛНПЦ ООО «Західплемресурси» Львовской области на технологическом оборудовании немецкой фирмы «Minitub» согласно пакета программного обеспечения CASA (Computer Assisted Semen Analysis) – Sperm Vision. Оттаянно-размороженную сперму быков исследовали в 7 полях, в среднем 100 клеток в поле зрения. Компьютерная программа обеспечивает графическое сопровождение результатов анализа с цветным изображением траекторий движения спермиев (рис. 1).

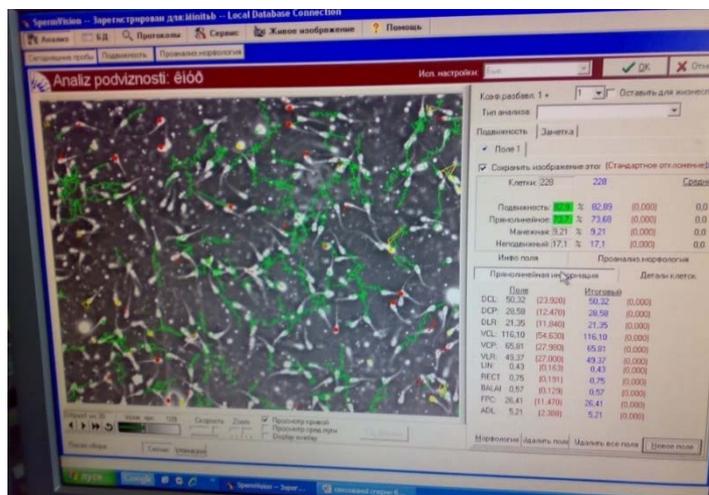


Рис. 1. Рабочее окно пакета программного обеспечения Sperm Vision

Анализ проводили по отдельным образцам, в поле зрения и по отдельным сперматозоидам. Общая длительность анализа составляла 15–20 сек. Исследованию подвергали несексированную и сексированную сперму быков-производителей голштинской породы канадской селекции с ООО «Симекс Альянс Украина» [11].

Проведено исследование спермы 4 быков-производителей разных линий. Исследовано 24 спермодозы, из них 12 спермодоз сексированной и 12 спермодоз традиционной (несексированной) спермы (табл. 1).

### 1. Исследования спермы быков-производителей

Кличка, инв. № быка	Линия	Количество спермодоз	
		сексированная сперма	традиционная сперма
Benjamin Red CANM 7866444	Белла	3	3
Ardent HOUSAM 137922325	Чіфа	3	3
Mathys CANM 103439288	Чіфа	3	3
Vioris Sleeman HOCANM7817774	Валіанта	3	3

Сексированная сперма быков подвергалась процессу разделения с помощью метода высокоскоростной проточной цитометрии для получения фракций, содержащих 87–92% сперматозоидов с Y-хромосомой. После разделения сперма была криоконсервирована в пайетах объемом 0,25 мл [5, 10, 11].

Оценку качества спермы проводили по следующим показателям: концентрация спермиев в 1 мл, их подвижность после размораживания, количество спермиев с прямолинейным поступательным движением (ППД), манежным движением и неподвижных, а также после инкубации при температуре 37°C через 60, 120, 180 минут; интактность акросомы, уровень микробной обсемененности [2, 8].

Дополнительно были изучены динамические характеристики движения сперматозоидов:

DCL – пройденное расстояние криволинейного движения микрометров;

DAP – пройденное расстояние по средней траектории движения, микрометров;

DSL – пройденное расстояние прямолинейного движения, микрометров;

VCL – скорость при криволинейном движении, мкм/с;

VAP – скорость продвижения головки сперматозоида по средней траектории движения, мкм/с;

VSL – скорость прямолинейного движения головки спермия вдоль прямого отрезка между начальной и конечной точками траектории, мкм/с;

LIN – степень линейности (VSL/VCL), %;

STR – степень прямолинейного движения сперматозоидов (VSL /VAP), %;

WOB – степень отклонения (VAP/VCL), %;

BCF – частота колебательного движения;

ALH – среднее боковое отклонение головки, амплитуда латерального сдвига головки спермия от средней траектории движения, микрометров;

AOC – среднее изменение направления движения;

R – радиус траектории движения.

Уровень микробной контаминации определяли сразу же после размораживания при использовании стандартных микробиологических методик.

Статистическая обработка полученных результатов проведена при использовании программного обеспечения Microsoft Excel.

**Результаты исследований.** Результаты исследований морфо-биологических свойств сперматозоидов, выделенных из сексированной и традиционной (несексированной) спермы с учетом подвижности, выживаемости, активности и других общепринятых показателей в зоотехнической практике, отражены в таблицах 2–6.

Цифровой материал дает основание констатировать следующие выявленные наблюдения.

Микробиологический анализ размороженных образцов сексированной спермы подтвердил их стерильность во всех пробах.

Сравнение целостности акросом у сперматозоидов криодеконсервированных с сексированных и традиционных пайет показало, что процесс разделения спермы не осуществил значительного негативного влияния на этот показатель. Инкубация спермы в течение трех часов привела к незначительному снижению количества половых клеток с неповрежденной акросомой (табл. 2–4).

## 2. Биологические показатели размороженной сексированной спермы быков-производителей

№ пробы	Концентрация, млрд. в 1 мл	Активность, %		Сперматозоидов с интактной акросомой, %		Микробная контаминация, микр. тел в дозе
		после размораживания	через 3 часа после размораживания	после размораживания	через 3 часа после размораживания	
Benjamin CANM7866444						
1	0,041	45	38	90	84	стерильно
2	0,044	46	41	85	80	стерильно
3	0,048	57	34	90	80	стерильно
Ardent HOUSAM137922325						
1	0,033	64	37	90	85	стерильно
2	0,034	65	29	85	75	стерильно
3	0,037	51	36	80	70	стерильно
Mathys CANM103439288						
1	0,044	50	33	90	82	стерильно
2	0,045	46	21	90	80	стерильно
3	0,049	78	37	85	80	стерильно
Vioris Sleeman HOCANM7817774						
1	0,045	73	42	90	75	стерильно
2	0,046	76	39	90	80	стерильно
3	0,040	73	46	85	75	стерильно

## 3. Анализ подвижности и выживаемости сексированных сперматозоидов

№ пробы	Количество сперматозоидов с прямолинейным поступательным движением после размораживания, %	Количество сперматозоидов с прямолинейным поступательным движением после инкубации при 37°C, %		
		через 60 мин	через 120 мин	через 180 мин
Benjamin CANM7866444				
1	39	61	31	21
2	37	44	28	26
3	50	51	35	16
Ardent HOUSAM137922325				
1	54	64	24	23
2	53	56	15	14
3	45	45	21	18
Mathys CANM103439288				
1	41	50	24	16
2	34	57	16	11
3	70	70	39	29
Vioris Sleeman HOCANM7817774				
1	73	63	33	29
2	78	67	26	20
3	73	61	39	27

4. Сравнительная характеристика видов движения сперматозоидов в сексированной и традиционной сперме

Сперма	После размораживания, %											
	через 60 мин					через 120 мин					через 180 мин	
	с ППД	с манежным движением	неподвижные	с ППД	с манежным движением	неподвижные	с ППД	с манежным движением	неподвижные	с ППД	с манежным движением	неподвижные
Benjamin CANM7866444												
сексированная	42 ± 2	12 ± 3	46 ± 6	34 ± 3	14 ± 4	48 ± 8	31 ± 3	14 ± 3	53 ± 7	22 ± 3	16 ± 1	62 ± 3
традиционная	76 ± 2	7 ± 4	17 ± 3	63 ± 4	9 ± 8	28 ± 4	52 ± 2	14 ± 10	37 ± 4	51 ± 2	11 ± 6	41 ± 6
Ardent HOUSAM137922325												
сексированная	51 ± 4	6 ± 2	43 ± 7	47 ± 5	10 ± 5	45 ± 9	20 ± 4	17 ± 1	63 ± 3	18 ± 4	13 ± 4	66 ± 4
традиционная	70 ± 4	8 ± 1	22 ± 2	56 ± 9	8 ± 3	35 ± 7	53 ± 2	15 ± 5	39 ± 5	50 ± 5	11 ± 3	42 ± 4
Mathys CANM103439288												
сексированная	48 ± 18	12 ± 2	40 ± 16	41 ± 16	14 ± 4	41 ± 9	26 ± 11	13 ± 4	60 ± 12	18 ± 9	14 ± 3	70 ± 8
традиционная	51 ± 4	12 ± 2	37 ± 5	51 ± 4	17 ± 3	26 ± 8	54 ± 3	15 ± 3	36 ± 5	56 ± 3	13 ± 2	37 ± 7
Vioris Sleetman HOCANM7817774												
сексированная	57 ± 16	6 ± 1	37 ± 16	52 ± 12	6 ± 1	34 ± 2	29 ± 4	12 ± 1	53 ± 6	25 ± 5	16 ± 4	58 ± 3
традиционная	69 ± 9	11 ± 4	20 ± 9	52 ± 8	14 ± 8	34 ± 1	49 ± 9	20 ± 6	38 ± 4	41 ± 10	10 ± 5	45 ± 7

**5. Сравнительная характеристика выживаемости криоконсервированных сперматозоидов в сексированной и традиционной сперме**

Сперма	Количество спермиев с прямолинейным поступательным движением после размораживания, %	Количество спермиев с прямолинейным поступательным движением после инкубации при 37°C, %		
		через 60 мин	через 120 мин	через 180 мин
Benjamin CANM7866444				
сексированная	42 ± 2	34 ± 3	31 ± 3	22 ± 3
традиционная	76 ± 2	63 ± 4	52 ± 2	51 ± 2
Ardent HOUSAM137922325				
сексированная	51 ± 4	47 ± 5	20 ± 4	18 ± 4
традиционная	70 ± 4	56 ± 9	53 ± 2	50 ± 5
Mathys CANM1063439288				
сексированная	48 ± 18	41 ± 16	26 ± 11	18 ± 9
традиционная	51 ± 4	51 ± 4	54 ± 3	56 ± 3
Vioris Sleeman HOCANM7817774				
сексированная	57 ± 16	52 ± 12	29 ± 4	25 ± 5
традиционная	69 ± 9	52 ± 8	49 ± 9	41 ± 10

**6. Сравнительная характеристика активности криоконсервированных сперматозоидов в сексированной и традиционной сперме**

Сперма	Активность спермиев после размораживания	Активность сперматозоидов после инкубации при 37°C		
		через 60 мин	через 120 мин	через 180 мин
Benjamin CANM7866444				
сексированная	49 ± 6	52 ± 8	47 ± 7	38 ± 3
традиционная	85 ± 2	72 ± 4	63 ± 4	59 ± 6
Ardent HOUSAM137922325				
сексированная	60 ± 7	55 ± 9	37 ± 3	34 ± 4
традиционная	81 ± 4	65 ± 7	61 ± 5	58 ± 4
Mathys CANM103439288				
сексированная	58 ± 14	59 ± 9	40 ± 12	30 ± 8
традиционная	65 ± 9	74 ± 8	64 ± 5	63 ± 7
Vioris Sleeman HOCANM7817774				
сексированная	74 ± 2	64 ± 3	45 ± 4	42 ± 3
традиционная	78 ± 2	67 ± 1	62 ± 4	55 ± 7

В исследуемых образцах размороженной сексированной спермы концентрация сперматозоидов составила 33–49 млн в 1 мл, а их активность (подвижность) сразу после оттаивания была в пределах 49–74%, в то время как этот показатель в традиционной (несексированной) сперме был выше на 15–33%.

Подвижность и выживаемость сексированных сперматозоидов в сравнении с аналогичными показателями традиционной спермы одних и тех же быков-производителей на 15–20% ниже, что необходимо учитывать при дальнейшем совершенствовании используемой технологии. Сходные результаты получены и при изучении подвижности сперматозоидов, которая была существенно ниже в образцах сексированной спермы. Наивысшей активностью обладали спермии быка Vioris Sleeman HOCANM7817774. Следует подчеркнуть, что у этого производителя показатели активности сперматозоидов в сексированной и несексированной сперме были сравнительно высокими (74 и 78% соответственно). Это свидетельствует о возможности отбора быков по данному показателю качества спермы. Поэтому комплексную оценку быков-производителей следует дополнять показателями их спермопродукции и плодовитости [4, 7].

Показатели качества спермы в образцах сексированной спермы имеют, в среднем, меньшую вариацию при больших негативных показателях.

Схожая ситуация наблюдается и в таблице 4 относительно выживаемости криоконсервированных спермиев. У всех исследованных быков выживаемость криоконсервированных сперматозоидов хуже у образцах сексированной спермы (табл. 5. 6).

Не следует слишком пессимистически оценивать полученные экспериментальные результаты. Схожие проблемы возникали и на начальных этапах разработки и освоения технологии замораживания-оттаивания нативной спермы быков. Известно, что эти проблемы были успешно решены. Поэтому следует системно изучать генотип ряда генераций потомков, полученных при использовании сексированной спермы, в т.ч. анализируя баланс хромосом в тканях и организме в целом.

**Выводы.** Разработка, освоение и практическое применение сексированной спермы быков-производителей является крупнейшим достижением биологической науки в области разведения и размножения сельскохозяйственных животных в XXI веке. Оно повлияет и на приемы сохранения генофондов живых организмов, темпов их эволюции и на интенсивность селекционного процесса, особенно в отношении создания и функционирования отцовских и материнских линий, использования матроклинного эффекта и других аспектов.

Технологию разделения сперматозоидов, несущих X или Y-хромосому следует совершенствовать с учетом опыта и результатов освоения традиционного искусственного осеменения сельскохозяйственных животных.

В связи с внедрением в мировую практику сексированного семени тема оценки качества спермы производителей становится особенно актуальной. Разделение спермы по полу весьма агрессивная процедура и поэтому необходимо использовать сперму с высокими количественными и качественными показателями.

В последующих экспериментах необходимо изучить эффективность осеменения телок сексированной спермой с учетом следующих показателей: оплодотворяемость (%), соотношение полов в приплоде (%), характеристика по комплексу показателей коров-первотелок, полученных при использовании сексированной спермы в сравнении с их матерями.

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Гончаренко, И. В. Основные элементы технологии использования сексированной спермы быков в скотоводстве / И. В. Гончаренко, В. Н. Фычак // Эксклюзивные технологии. – 2014. – № 3. – С. 42–45 (начало). – № 4. – С. 42–45.
2. Гончаренко, І. В. Використання технологічних прийомів заморожування-відтаювання сперми жеребців у малих об'ємах / І. В. Гончаренко, Н. П. Платонова // Науковий вісник «Асканія-Нова». – Асканія-Нова: «ПІЕЛ», 2012. – Вип. 5. – Ч. 1. – С. 227-237.
3. Дунин, И. Эффективность осеменения телок сексированным семенем / И. Дунин и др. // Молочное и мясное скотоводство. – 2011. – № 3. – С. 9–11.
4. Лебедев, Н. А. Устойчивость к замораживанию и оплодотворяющая способность спермы быков в зависимости от условий ее получения и разбавления: автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. с.-х. наук : спец. 06.02.01 – «Разведение, селекция, генетика и воспроизводство сельскохозяйственных животных» / Н. А. Лебедев. – Горки, 2000. – 20 с.
5. Пелих, Ю. С. Селекційна оцінка корів-первісток, отриманих за використання сексованої сперми / Ю. С. Пелих // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.Г. Гжицького. – Львів, 2012. – Т. 14. – № 3(53). – Ч. 3. – С. 144–148.
6. Пелих, Ю. С. Оцінка якості сексованої сперми бугаїв-плідників / Ю. С. Пелих // Вісник Сумського НАУ. – Серія «Тваринництво». – Суми, 2014. – Вип. 2/1(24). – С. 208–211.
7. Пыжова, Е. А. Оценка воспроизводительной способности быков-производителей по комплексу признаков: автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. биол. наук : спец. 06.02.07 – «Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных» / Е.А. Пыжова. – п. Быково Московской обл., 2011. – 21 с.

8. Турчанов, С. Биологическая ценность оттаянной спермы / С. Турчанов // Животноводство России. – 2007. – № 8. – С. 45.
9. Черняк, Н. Г. Використання сексованої сперми бугаїв у молочному скотарстві / Н. Г. Черняк, О. П. Гончарук // Розведення і генетика тварин. – 2012. – Вип. 46. – С. 223–226.
10. Alm-Packalen Karoliina. Semen quality and fertility after artificial insemination in dairy cattle and pigs. – Helsinki: Academic Dissertation, 2009. – 52 p.
11. Bart Gietema. Reproduction in dairy cattle II. Agromisa Foundation, Wageningen, 2005. – 65 p.
12. Holstein catalogue. – 2012. – August. – P. 15, 44, 56, 68.

## REFERENCES

1. Goncharenko, I. V., and V. N. Fychak. 2014. Osnovnye elementy tekhnologii ispol'zovaniya seksirovannoy spermy bykov v skotovodstve – Basic elements of technology of the use of sexed semen of bulls are in the cattle breeding. *Eksklyuzivnye tekhnologii – Exclusive technologies*. 3:42–45 (nachalo). – 4:42-45 (in Russian).
2. Goncharenko, I. V. and N. P. Platonova. 2012. Vykorystannya tekhnolohichnykh pryomiv zamorozhuvannya-vidtayuvannya spermy zherebtsiv u malykh ob'yemakh – The use of technological methods of freezing-thawing of stallions sperm in small volumes. *Naukovyy visnyk «Askaniya-Nova» – Scientific bulletin «Askaniya-Nova»*. 5(1):227-237 (in Ukrainian).
3. Dunin, I. 2011. Effektivnost' osemneniya telok seksirovannym semenem – Efficiency of insemination of heifers a sexed semen. *Molochnoe i myasnoe skotovodstvo – Dairy and meat cattle breeding*. 3:9-11 (in Russian).
4. Lebedev, N. A. 2000. *Ustojchivost' k zamorazhivaniyu i oplodotvoryajushhaya sposobnost' spermy bykov v zavisimosti ot usloviy ee polucheniya i razbavleniya. Avtoref. diss. na soiskanie uch. stepeni kand. s.-h. nauk : spec. 06.02.01 – Stability to freezing and impregnating ability of sperm of bulls depending on the terms of its receipt and dilution. Abstract of a thesis for Master of Agriculture degree*. Gorki. 20 (in Russian).
5. Pelykh, Yu.S. 2012. Seleksiyna otsinka koriv-pervistok, otrymanykh za vykorystannya seksovanoyi spermy – Evaluation breeding cows firstborn received for use sexed semen. *Naukovyy visnyk LNUVMBT im. S.H. Hzhys't'koho – Scientific bulletin of LNUVMB named after S.Z. Gzhys'kyj*. 14.3(53):144-148 (in Ukrainian).
6. Pelykh, Yu. S. 2014. Otsinka yakosti seksovanoyi spermy buhayiv-plidnykiv – Quality control of bulls sexed semen. *Visnyk Sums'koho NAU. Seriya Tvarynnytstvo – Bulletin of Sumy National Agrarian University, series of Animal Husbandry*. 2/1(24):208–211 (in Ukrainian).
7. Pyzhova, E. A. 2011. Ocenka vosproizvoditel'noj sposobnosti bykov-proizvoditelej po kompleksu priznakov. *Avtoref. diss. na soiskanie uch. stepeni kand. biol. nauk : spec. 06.02.07 – Estimation of reproductive ability of bulls-producers on the complex of signs. Abstract of a thesis for Master of Agriculture degree*. Bykovo Moskovskoj obl. 21 (in Russian).
8. Turchanov, S. 2007. Biologicheskaja cennost' ottajannoj spermy – Biological value of freezing-thawing sperm. *Zhivotnovodstvo Rossii – Stock-raising of Russia*. 8:45 (in Russian).
9. Chernyak, N. H. and O. P. Honcharuk. 2012. Vykorystannya seksovanoyi spermy buhayiv u molochnomu skotarstvi – The use of seksed sperm of bulls is in the dairy cattle breeding. *Rozvedennya i henetyka tvaryn – Breeding and genetics of animals*. 46:223-226 (in Ukrainian).
10. Alm-Packalen Karoliina. 2009. *Semen quality and fertility after artificial insemination in dairy cattle and pigs*. Helsinki, Academic Dissertation, 52.
11. Bart Gietema. 2005. *Reproduction in dairy cattle II*. Agromisa Foundation. Wageningen, 65.
12. 2012. *Holstein catalogue*. August, 5, 44, 56, 68.