

## ФОРМИРОВАНИЕ КОЛОСТРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И СТАНОВЛЕНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ ПОД ДЕЙСТВИЕМ РОНКОЛЕЙКИНА

А.В.Кляпнев – аспирант.

ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия», Н.Новгород (603107, г.Нижний Новгород, пр. Гагарина, д.97, e-mail: anatomifarmitox@mail.ru).

Целью настоящих исследований явилось определение возможности воздействия препарата Ронколейкин (Интерлейкин-2) на накопление в молочной железе коров перед отелом иммуноглобулинов и других иммуногенных факторов, выделение их в составе молозива, а также влияние этих факторов на состояние колострального иммунитета и становление неспецифической резистентности у телят при инъекции стельным коровам-матерям этого препарата. Коровам опытной группы Ронколейкин инъецировали подкожно однократно по 0,5 мг (500000 МЕ) на животное за 3-6 дней до отела. Животным контрольной группы вводили подкожно физиологический раствор хлористого натрия по той же схеме. Кровь для исследований брали у новорожденных телят через 6 часов после рождения и на 10-е сутки. Отмечено повышение количества эритроцитов +14,37% ( $P<0,05$ ), лейкоцитов +22,37% ( $P<0,05$ ), за счет лимфоцитов; уровень общего белка был выше на 12,74%, особенно фракций альбуминов +13,12% ( $P<0,05$ ) и  $\gamma$ -глобулинов +16,1% ( $P<0,05$ ); уровень гемоглобина был выше на 20,68% ( $P<0,05$ ) через 6 часов после рождения у опытных телят по сравнению с контрольными. При повторном исследовании крови телят в возрасте 10 дней по отмеченным показателям различия с контрольной группой у животных опытной группы сохранились. Отмечено повышение живой массы опытных телят на 19,8% в сравнении с контрольной группой в молочный период выращивания за 2 месяца наблюдения. Полученные данные позволяют уточнить некоторые стороны регуляции иммунологического статуса и метаболизма в организме новорожденных телят, что должно быть учтено при разработке физиологически обоснованных практических способов иммуномодуляции и повышения метаболических процессов в организме телят в этот период выращивания, часто сопровождающийся иммунодефицитами и болезнями желудочно-кишечного тракта этих животных.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** колостральный иммунитет, новорожденные телята, неспецифическая резистентность, Ронколейкин, глубокостельные коровы.

В проведенных лабораторией белково-аминокислотного питания исследованиях установлено участие аминокислот в регуляции процессов пищеварения, межклеточного обмена и неспецифической резистентности молодняка крупного рогатого скота и отработаны способы применения препаратов аминокислот для этих целей. У новорожденных телят аминокислоты глицин, глутамат, таурин, орнитин и др. повышают интенсивность всасывания иммуноглобулинов молозива в кишечнике, ускоряют становление естественной резистентности. Разработаны и испытаны пролонгированные формы препаратов аминокислот для парентерального применения [4, 15, 16].

Преимущество пептидов перед препаратами аминокислот может заключаться в их большей устойчивости к расщеплению, особенно пептидные связи с аспарагиновой и глутаминовой кислотами, что важно при парентеральном применении препаратов.

По этим критериям в большей мере подходят для синтетических пептидов дикарбоновые аминокислоты аспарагиновая и глутаминовая, которые достаточно подробно изучались в лаборатории белково-аминокислотного питания на телятах.

Из известных синтетических пептидов названным условиям отвечают такие пептиды, как эпиталон

(ала-глу-асп-гли), кортаген (ала-глу-асп-про), ливаген (лиз-глу-асп-ала), и дипептиды вилон (глу-лиз) и тимоген (глу-трп), не содержащие аспарат.

Для научно-исследовательской работы был использован дипептид тимоген (глутамил-триптофан). Входящая в его состав глутаминовая кислота по данным Белокрылова Г.А. и сотр. [2,3] является одной из эффективных аминокислот, способных ускорять дифференцировку предшественников Т-клеток в Т-лимфоциты и усиливать ответ на гетерологические эритроциты в опытах *in vitro* на спленоцитах и на лабораторных животных.

Препарат тимоген стимулировал гуморальный иммунный ответ у тимэктомированных мышей, увеличивал содержание циклических нуклеотидов в спленоцитах, усиливал хемотаксис и фагоцитоз нейтрофилов, стимулировал регенерацию печени у крыс после частичной гепатэктомии и при экспериментальном циррозе [12,13].

Препарат применяют для стимулирования регенерации тканей при воспалительных заболеваниях, трофических нарушениях, поражениях кожи и слизистых оболочек, последствиях воздействия термических и химических факторов, сопровождающихся нарушением репаративных процессов.

Подкожное двукратное введение тимогена [14] с интервалом 6 дней телятам 20-30-дневного возраста в дозе 500 мкг действующего вещества на животное стимулировало становление неспецифической резистентности у телят. Это проявилось в повышении количества лейкоцитов в крови животных опытной группы, показателей фагоцитарной, лизоцимной и бактерицидной активности.

Субпопуляцией Т-лимфоцитов кроме тимолина и других олигопептидов продуцируется интерлейкин-2, обладающий гормоноподобным действием (медиаторным) в ответ на антигенную стимуляцию, усиливая пролиферацию лимфоцитов и последующий синтез интерлейкина-2. «Зрелый» интерлейкин-2 содержит 133 аминокислотных остатка и одну углеводную цепь. Разработан и используется в медицине препарат Интерлейкин-2 человека рекомбинантный (Ронколейкин), обладающий иммуномодулирующим действием.

В связи с этим был проведен опыт по введению препарата Ронколейкин глубокоствольным коровам для изучения влияния препарата на выделение иммуноглобулинов с молозивом и всасывание у новорожденных телят.

**Материалы и методы.** Работа выполнена в весеннее-летний период 2015 года на молочно-товарной ферме сельскохозяйственного производственного кооператива «Мир» Дальнеконстантиновского района Нижегородской области. Объектами исследования были отобранные по принципу пар аналогов 20 глубокоствольных коров черно-пестрой породы, которые

были разделены на 2 группы (контрольная и опытная) по 10 животных в каждой. Коровам опытной группы вводили парентерально препарат Ронколейкин в дозе 0,5 мг (500000 МЕ) на животное однократно. Животным контрольной группы вводили подкожно физиологический раствор хлористого натрия. Телята содержались в профилакторном помещении хозяйства. Велось клиническое наблюдение за подопытными животными. Взвешивание телят проводилось перед началом опыта и через 1 и 2 месяца после его начала. Телята имели свободный доступ к корму и воде. Пробы крови у телят брали из яремной вены через 6 ч после рождения и через 10 суток.

Белковые фракции крови определяли на анализаторе Minicap, Sebia, общий анализ крови проводили на гематологическом анализаторе ХТ 2000, Systex, Eurore, GmbH; исследование Т- и В-лимфоцитов - методом розеткообразования, а лейкограмму - путем подсчета в мазках крови лейкоцитов разных видов, окрашенных по Романовскому-Гимза [8].

Анализы выполнялись в лаборатории белково-аминокислотного питания ВНИИФБиП, лаборатории «Гемохелп» г. Нижний Новгород, на кафедре «Анатомия, хирургия и внутренние незаразные болезни» Нижегородской ГСХА.

Статистическая обработка полученных материалов проводилась методом парных сравнений [1].

**Результаты исследований.** В опыте, выполненном в хозяйстве «Мир» в весеннее-летний период, у телят опытной группы, родившихся от коров-мате-

Таблица 1

**Морфологические показатели крови телят (n=10)**

Показатель	Через 6 ч после рождения		Через 10 сут после рождения	
	Контроль	Опыт (Ронколейкин)	Контроль	Опыт (Ронколейкин)
Эритроциты, млн./мкл	7,72±0,27	8,83±0,23*	8,05±0,06	8,17±0,05
Лейкоциты, тыс./мкл	8,67±0,63	10,61±0,57*	8,87±0,31	9,78±0,65*
Лейкоформула, %				
Юные нейтрофилы	8,7	8,3	3,7	3,4
Палочкоядерные нейтрофилы	18,7	16,1	9,3	9,8
Сегментоядерные нейтрофилы	38,9±2,6	38,5±3,1	27,7±3,0	26,2±2,8
Общее количество нейтрофилов, тыс./мкл	5,74	6,67	3,61	3,85
Эозинофилы	1,1	1,4	0,8	1,2
Базофилы	1,0	0,6	0,4	0,7
Моноциты	4,3	3,9	8,3	8,5
Лимфоциты	27,3±2,5	31,2±3,4	49,8±2,9	50,2±3,3
Общее количество лимфоцитов, тыс./мкл	2,36	3,31	4,41	4,9
Соотношения лимфоцитов:				
Лимфоциты/сегментоядерные нейтрофилы	0,7	0,81	1,8	1,91
Нейтрофилы/лимфоциты	2,43	2,01	0,81	0,78

Примечание: здесь и далее в таблицах \* – P<0,05 по парному критерию при сравнении с контролем.

рей, которым вводили интерлейкин-2, через 6 ч после рождения отмечен более высокий уровень лейкоцитов в крови по сравнению с интактными животными +22,37% ( $P<0,05$ ) и эритроцитов +14,37% ( $P<0,05$ ). Также были отмечены изменения в процентном содержании отдельных видов лейкоцитов. Количество юных и палочкоядерных было снижено на 4,59% и 13,9%, количество сегментоядерных нейтрофилов не претерпело каких-либо значительных изменений в опытной группе по сравнению с контрольной. Увеличение количества лейкоцитов произошло главным образом за счет лимфоцитов + 14,28% в опытной группе по

сравнению с контрольной. Через 10 сут показатели крови телят опытной и контрольной групп претерпели возрастные (снижение общего количества нейтрофилов и увеличение общего количества лимфоцитов), и обусловленные действием препарата Ронколейкин на стельных коров изменениями (табл. 1).

Абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов у телят опытной группы через 6 часов после рождения по сравнению с контрольной группой повысилось на 50% и 6,72% соответственно. Количество В-лимфоцитов у опытных телят находилось примерно на одном уровне с контрольной группой.

Таблица 2

### Содержание Т- и В-лимфоцитов в крови телят (n=10)

Показатель	Через 6 ч после рождения		Через 10 сут после рождения	
	Контроль	Опыт (Ронколейкин)	Контроль	Опыт (Ронколейкин)
Лимфоциты, %	27,3±2,5	31,2±3,4	49,8±2,9	50,2±3,3
тыс./мкл	2,36	3,31	4,41	4,9
Т-клетки: %	63,9±2,0	68,2±0,79	66,4±1,1	67,01±0,81
тыс./мкл	1,5	2,25	2,95	3,28
В-клетки: %	23,1±1,65	21,7±0,63	22,6±0,70	22,4±0,5
тыс./мкл	0,54	0,71	0,99	1,09

Из биохимических и иммунологических показателей крови достоверное повышение отмечено по содержанию альбуминов – +13,12%, ( $P<0,05$ );  $\gamma$ -глобулинов – +16,1%, ( $P<0,05$ ) и гемоглобина – +20,68%, ( $P<0,05$ ) у телят II группы. При повторном исследовании крови телят в возрасте 10 дней по отмеченным показателям раз-

личия с контрольной группой у животных опытной группы сохранились. Уровень  $\gamma$ -глобулинов был выше на 34,2%, ( $P<0,05$ ), по сравнению с контрольной группой. Отмечено также повышение в крови животных опытной группы уровня альбуминов +15,13% ( $P<0,05$ ), общего белка +23,7% ( $P<0,05$ ), гемоглобина +16,44 ( $P<0,05$ ).

Таблица 3

### Биохимические и иммунологические показатели крови телят (n=10)

Показатель	Через 6 ч после рождения		Через 10 сут после рождения	
	Контроль	Опыт (Ронколейкин)	Контроль	Опыт (Ронколейкин)
Альбумины, г/л	16,15±0,25	18,27±0,61*	17,24±0,57	19,85±0,84*
$\alpha$ -глобулины, г/л	16,24±0,41	17,71±0,8	13,06±0,35	18,64±0,64*
$\beta$ -глобулины, г/л	8,17±0,37	9,2±0,62	10,48±0,12	10,09±0,53
$\gamma$ -глобулины, г/л	17,35±0,53	20,11±0,67*	18,09±0,53	24,26±0,37*
Общий белок, г/л	57,91	65,29	58,87±2,6	72,84±2,2
Гемоглобин, г/л	92,8±3,2	112,0±5,1*	99,7±0,48	116,1±2,3*
Гематокрит	30,8±0,7	35,4±1,5	31,3±0,5	30,7±0,6
Мочевина, ммоль/л	5,66±0,41	5,85±0,34	5,42±0,47	5,65±0,34
Глюкоза, ммоль/л	5,58±0,37	5,69±0,27	5,23±0,34	5,07±0,45

Стимуляция неспецифической резистентности телят введением паренентерально Ронколейкина, способствовала повышению прироста живой массы телят на 19,8%, в сравнении с контрольной группой (493 г/сут и 591 г/сут соответственно в контроле и

опытной группе) в молочный период выращивания за 2 месяца наблюдения.

**Заключение.** Подкожное однократное введение препарата Ронколейкин в дозе 0,5 мг (500000 ME) стельным коровам за 3-6 дней до отела способствова-

ло накоплению в молочной железе иммуноглобулинов и других иммуногенных факторов и выделению их в составе молозива. Это непосредственно отразилось на картине крови новорожденных телят через сутки после выпаживания им молозива. Отмечено повышение количества эритроцитов +14,37% ( $P < 0,05$ ), лейкоцитов +22,37% ( $P < 0,05$ ), наблюдался более высокий уровень гемоглобина +20,68% ( $P < 0,05$ ), общего белка, особенно фракций альбуминов +13,12% ( $P < 0,05$ ) и  $\gamma$ -глобулинов +16,1% ( $P < 0,05$ ), через 6 часов после рождения у опытных телят по сравнению с контрольными.

Полученные данные позволяют уточнить некоторые стороны регуляции иммунологического статуса и метаболизма в организме новорожденных телят, что должно быть учтено при разработке физиологически обоснованных практических способов иммуномодуляции и повышения метаболических процессов в организме телят в этот период выращивания, часто сопровождающийся иммунодефицитами и болезнями желудочно-кишечного тракта этих животных.

Литература

1. Асатиани, В.С. Новые методы биохимической фотометрии / В.С.Асатиани. – М.: Наука, 1965. – 543 с.
2. Белокрылов, Г.А. Аминокислоты как стимуляторы иммуногенеза / Г.А.Белокрылов, И.М.Молчанова, Е.И.Сорочинская // Доклады АН СССР. – 1986. – № 2. – С. 289-290.
3. Детоксикация аминокислотами и пептидными препаратами бензола и афлатоксина В 1 у цыплят / Г.А.Белокрылов [и др.] // Доклады РАСХН. – 2000. – № 2. – С. 51-52.
4. Состояние неспецифической резистентности новорожденных телят под воздействием препаратов аминокислот / В.И.Великанов [и др.] // Новые фармакологические средства в ветеринарии: мат. XVIII Междунар. конф. – СПб, 2006. – С. 49-50.
5. Воробьев, А.А. Иммунобиологические препараты: настоящее и будущее / А.А.Воробьев, В.А.Лященко // ЖМЭИ. – 1995. – № 6. – С. 105-111.
6. Коваленко, Я.Р. Формирование иммунобиологического статуса у молодняка сельскохозяйственных животных / Я.Р.Коваленко // Вестник с/х науки. – 1979. – № 2. – С. 50-58.
7. Кондрахин, И.П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: справ. изд / И.П.Кондрахин. – М.: Колос, 2004. – 520 с.
8. Методы биохимического анализа: справ. пос. / под ред. акад. Б.Д.Кальницкого. – Боровск: ВНИИФБиП, 1997. – 356 с.
9. Плященко, С.И. Естественная резистентность организма животных / С.И.Плященко, В.Т.Сидоров. – Л.: Колос, 1979. – 184 с.
10. Руководство по иммунофармакологии / под. ред. М.М.Дейли и Дж.К.Формена. – М.: Медицина, 1998. – 332 с.
11. Середа, А.Д. Иммуностимуляторы. Классификация, характеристика, область применения (обзор) / А.Д.Середа, В.С.Кропотов, М.М.Зубаиров // Сельскохозяйственная биология. – 2001. – № 4. – С. 83-86.
12. Хавинсон, В.Х. Механизм геропротективного действия пептидов: обзор / В.Х.Хавинсон, В.В.Малинин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – № 1. – С. 4-12.
13. Хавинсон, В.Х. Пептидергическая регуляция гомеостаза / В.Х.Хавинсон, И.М.Кветной, И.П.Ашмарин // Успехи современной биологии. – 2002. – Т. 122, № 4. – С. 554-570.
14. Харитонов, Л.В. Влияние тимогена на становление неспецифической резистентности у телят-молочников / Л.В.Харитонов, А.Н.Морозов, О.В.Харитонova // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2012. – № 2. – С. 42-48.
15. Влияние препаратов аминокислот на функциональное состояние и неспецифическую резистентность телят / Л.В.Харитонов, И.Л.Кузнецов, Е.А.Пронькина, В.И.Великанов // Труды ВНИИФБиП с.-х. животных. – 2002. – Т. 41. – С. 83-96.
16. Участие аминокислот в регуляции процессов питания и резистентности молодняка крупного рогатого скота / Л.В.Харитонов, В.А.Матвеев, В.И.Великанов, Д.Е.Пронькин // Актуальные проблемы биологии в животноводстве: мат. 3-й Междунар. конф. – Боровск, 2001. – С. 177-188.

## FORMATION OF COLOSTRAL IMMUNITY AND NON-SPECIFIC RESISTANCE IN NEWBORN CALVES TREATED WITH RONCOLEUKIN

*Klyapnev A. V. – postgraduate fellow.*

*N. Novgorod State Agricultural Academy, N. Novgorod (e-mail: anatomifarmitox@mail.ru).*

*The aim of the present studies was to determine a possible effect of Roncoleukin on accumulation of immunoglobulins and other immunogenic factors in the mammary gland of cows before calving, their discharge as a part of colostrum, as well as the influence of these factors on the formation of colostrums-driven immunity and nonspecific resistance in newborn*

calves. 20 down-calving cows of black-motley breed selected for its analogues were the objects of the experimental studies. The cows from the experimental group were subcutaneously injected once with Roncoleukin at dosage of 0.5  $\mu$  3–6 days before calving. The control animals were injected subcutaneously with a physiological sodium chloride solution using the same scheme. Blood was taken for research in newborn calves at 6 hours and 10th day after birth. At six hours after birth the calves born to cows from the experimental group showed a significant increase in the number of red blood cells +14.37% ( $P<0.05$ ), white blood cells +22.37% ( $P<0.05$ ) on account of lymphocytes, the level of total protein was up to 12.74%, especially albumin fractions + 13.12% ( $P<0.05$ ) and  $\gamma$ -globulins + 16.1% ( $P<0.05$ ); hemoglobin level was higher for 20.68% ( $P<0.05$ ) comparing to the control animals. Another blood test performed at 10 days after birth showed that the difference in the studied blood parameters remained the same. The experimental calves had higher weight gain for 19.8% compared with the control group at suckling growth period for 2 months of observation. The obtained data enable to clarify some aspects of regulation in immunological status and metabolism of newborn calves. This should be taken into account in development of physiologically justified practical methods of immunomodulation and increase of metabolic processes in calves during this period of growth that is often accompanied by animal immune deficiencies and gastrointestinal diseases.

**KEYWORDS:** colostral immunity, newborn calves, nonspecific resistance, Roncoleukin, down-calving cows.

#### References

1. Asatiani, V.S. Novyye metody biohimicheskoy fotometrii [New methods of biochemical photometry]. – Moscow: Nauka, 1965. – 543 p.
2. Belokrylov, G.A. Aminokisloty kak stimulyatory leykopoeza [Amino acids as inducers of immunogenesis] / G.A.Belokrylov, I.M.Molchanova, E.I.Sorochinskaya // Doklady AN SSSR – Reports of USSR Sciences Academy, 1986, Vol. 2. – P. 289–293.
3. Belokrylov G.A., Detoksikatsiya aminokislotami i peptidnymi preparatami benzola i aflatoksinu B<sub>1</sub> u tsyplyat. [Intoxication with amino acids and peptide drugs from benzol and aflatoxin B<sub>1</sub> in chickens] / G.A.Belokrylov [et al.]// Doklady RASHN – Reports of Russian Academy of Agricultural Sciences, 2000, Vol. 2. – P. 51–52.
4. Velikanov, V.I. Sostoyanie nespetsificheskoy rezistentnosti novorozhdennykh telyat pod vozdeystviem preparatov aminokislot [Status of non-specific resistance in newborn calves under the influence of amino acid products] / V.I.Velikanov [et al.] // Novyye farmakologicheskie sredstva v veterinarii – New pharmacological means in Veterinary Medicine: proceedings from 18th International Conference-Saint Petersburg, 2006. – P. 49–50.
5. Vorobyov, A.A., Immunobiologicheskie preparaty: nastoyashee i budushee [Immunobiological drugs: the present and the future] // A.A.Vorobyov, V.A.Lyashenko. – Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunology. – 1995. – Vol. 6. – P.105–111.
6. Kovalenko, Y.R. Formirovaniye immunobiologicheskogo statusa u molodnyaka selskohozyaystvennykh zhivotnykh [Formation of immunobiological status in young farm animals] /Y.R.Kovalenko //Vestnik s.-h. nauki. – 1979. – Vol.2. – P.50–58.
7. Kondrahin, I.P. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika v veterinarii. Spravochnoe izdanie [Clinical laboratory diagnostics in Veterinary Medicine. A reference book] / I.P.Kondrahin. – Moscow: Kolos, 2004. – 520 p.
8. Metody biohimicheskogo analiza. Spravochnoe posobie [Methods of biochemical analysis. A reference book] / edited by Kalnitskiy B.D. – Borovsk: 1997. – 356 p.
9. Plyashhenko, S.I. Estestvennaya rezistentnost organizma zhivotnykh [The natural resistance in animals] / S.I.Plyashhenko, V.T.Sidorov. – Leningrad: Kolos, 1979. – 184 p.
10. Rukovodstvo po immunofarmakologii [A guidelines on immune pharmacology] / edited by M.M.Daily and J.K.Forman. – Moscow: «Medicine», 1998. – 332 p.
11. Sereda, A.D. Immunostimulyatory. Klassifikatsiya, harakteristika, oblast primeneniya (obzor). [Immunostimulants. The classification, characteristic, the field of their application. A review] / A.D.Sereda, V.S.Kropotov, M.M.Zubairov // Agrobiology. – 2001. – Vol. 4. – P. 83–86.
12. Havinson, V.H., Mehanizm geroprotektivnogo deystviya peptidov [A mechanisms of geroprotective action of peptides] / V.H.Havinson, V.V.Malinin // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2002. – Vol. 1. – P. 4–12.
13. Havinson, V.H. Peptidgergicheskaya regulyatsiya gomeostaza [Peptidergic regulation of homeostasis] / V.H.Havinson, I.M.Kvetnoy, I.P.Ashmarin // Uspehi sovremennoy biologii. –2002. – Vol. 122, Issue 41. – P. 83–96.
14. Kharitonov, L.V., Vliyaniye timogena na stanovleniye nespetsificheskoy rezistentnosti u telyat-molochnikov [Effect of timogen on formation of non-specific resistance in suckling calves] / L.V.Kharitonov, A.N.Morozov, O.V.Haritonova // Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh. – 2012. – Vol. 2. – P. 42–48.
15. Kharitonov, L.V. Vliyanie preparatov aminokislot na funktsionalnoe sostoyaniye i nespetsificheskuyu rezistentnost telyat [Effect of amino acid drugs on the functional state and the non-specific resistance in calves] / L.V.Kharitonov, I.L.Kuznetsov, E.A.Pronkina, V.I.Velikanov // Trudy VNIIFBiP, 2002. –Vol. 41. – P. 83–96.
16. Kharitonov, L.V. Uchastie aminokislot v regulyatsii protsessov pitaniya i rezistentnosti molodnyaka krupnogo rogatogo skota [An impact of amino acids into the regulation of digestion and resistance in young cattle herds] / L.V.Kharitonov, V.A.Matveev, V.I.Velikanov, D.E.Pronkin // Aktualnyye problemy biologii v zhivotnovodstve – Current biological problems in livestock breeding: proceedings from the 3rd International conference – Borovsk. – 2001. –P. 177–188.