

**НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ РЕЗУЛЬТАТОВ
ТРАНСВАГИНАЛЬНОЙ АСПИРАЦИИ ООЦИТОВ
У ЛАКТИРУЮЩИХ ДОНОРОВ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ**

**А. С. Дешко, Л. В. Голубец, Т. Ю. Драгун, М. А. Сехина,
Е. Л. Гайсенок, Д. Н. Харитоник, А. А. Сехин**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

***Ключевые слова:** донор, аспирация, ОКК, ооцит, эмбрион, бластоциста, качество, реципиент, трансплантация, пересадка, стельность.*

***Аннотация.** В статье представлены результаты исследований по изучению некоторых аспектов эффективности прижизненной аспирации ооцитов у лактирующих коров-доноров голштинской породы. По результатам исследования установлено, что средний выход ооцитов на одну аспирацию составил 10,3 ОКК (ооцит-кумулясный комплекс), доля пригодных для постановки на дозревание – 84,9 %, из которых 48,4 % ооцит-кумулясных комплексов оказалось отличного и хорошего качества. Выход эмбрионов от числа оплодотворенных ооцитов колебался в зависимости от используемого быка от 8,3 до 41,7 % при среднем показателе 25,2 %. Установлено, что наиболее эффективной пересадка эмбрионов оказалась реципиентам в возрасте 14 месяцев. Уровень стельности составил 53,1 %, что на 15,3-33,1 п. п. выше по сравнению с телками других возрастов и на 19,8 п.п. выше по сравнению с коровами. В зависимости от используемого быка уровень стельности колебался от 25,0 до 100 %.*

**SOME ASPECTS OF THE RESULTS OF TRANSVAGINAL
OOCYTE ASPIRATION IN LACTATING HOLSTEIN DONORS**

**A. S. Deshko, L. V. Golubets, T. Yu. Dragun., M. A. Sekhina,
E. L. Gaisenok, D. N. Kharitonik, A. A. Sekhin**

El «Grodno state agrarian university»
Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

***Key words:** donor, aspiration, OCC, oocyte, embryo, blastocyst, quality, recipient, transplantation, pregnancy.*

***Summary.** The article presents the results of studies on the study of some aspects of the effectiveness of intravital oocyte aspiration in lactating Holstein donor cows. According to the results of the research, it was found that the average yield of oocytes per aspiration was 10,3 OCC (oocyte-cumulus complex), the proportion of oocyte-cumulus complexes suitable for setting up was 84,9 %, of which 48,4 % of oocyte-cumulus complexes turned out to be excellent and good. quality. The yield of embryos from the number of fertilized oocytes varied depending on the bull used from 8,3*

to 41,7 %, with an average of 25,2 %. It was found that the most effective embryo transfer was for recipients at the age of 14 months. The pregnancy rate was 53,1 %, which is 15,3-33,1 p.p. higher compared to heifers of other ages and by 19,8 p.p. higher than cows. Depending on the bull used, the pregnancy rate ranged from 25,0 to 100 %.

(Поступила в редакцию 30.05.2023 г.)

Введение. Создание новых и совершенствование существующих пород, ускоренное размножения высокопродуктивных, ценных в племенном отношении животных, сохранение селекционного фонда, в т. ч. редких и исчезающих пород животных, производство экологически чистых фармацевтических препаратов, повышение эффективности международного сотрудничества по обмену и торговле генетическими ресурсами – это лишь небольшой список задач, к решению которых имеет самое непосредственное отношение трансплантация эмбрионов, полученных *in vivo* и *in vitro* [1, 3, 6].

За последние десятилетия данная технология стала неотъемлемой частью селекционных программ во всех странах с развитым животноводством и представляет собой хорошо развитую международную индустрию, в которой ежегодно продаются и покупаются десятки тысяч эмбрионов [4, 7, 10]. Роль и значение трансплантации эмбрионов стала еще более весомой с развитием технологий позволяющих получать потомство заданного пола, а также с широким внедрением в практику племенной работы геномной селекции, поскольку представилась возможность не только проводить племенную оценку будущего животного уже на эмбриональной стадии развития, значительно снижая тем самым затраты, но и в разы сократить сроки и увеличить шансы выявления и отбора «VIP» потомков от родителей с выдающейся племенной ценностью [5, 8, 11]. При этом следует отметить, что если производство эмбрионов *in vivo* в последние годы стабилизировалось, то количество эмбрионов, полученных и пересаженных посредством культуры *in vitro*, продолжает расти со среднегодовыми темпами в 12 %, а в 2016 году в первые в истории трансплантации эмбрионов количество эмбрионов, произведенных *in vitro*, превысило количество эмбрионов, произведенных по технологии *in vivo* [2], что указывает на сдвиг производителей эмбрионов от традиционной МОЕТ (Multiple Ovulation Embryo Transfer Technology) к IVP (*in vitro* production), что в немалой степени связано с повышением эффективности процедур IVP, хотя в целом ее уровень сегодня стабилизировался и не превышает в среднем 30-35 % от числа поставленных на созревание и оплодотворенных ооцитов. Данный факт говорит о том, что являясь по своей сути длительным, высокотехнологичным и достаточно сложным комплексным процессом технология *in vitro*

требует к себе особого внимания в плане понимания потребностей метаболизма гамет и эмбрионов поэтому все исследования, направленные на улучшение общей производительности на всех этапах (получение ооцитов, их созревание и оплодотворение, развитие эмбрионов их криоконсервация и пересадка), являются актуальными и своевременными.

Цель работы – изучить эффективность аспирации ооцитов у лактирующих доноров голштинской породы.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в отраслевой биотехнологической лаборатории по репродукции сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет». В качестве доноров ооцитов выступали лактирующие коровы голштинской породы в количестве 58 голов, возрастом 27-30 месяцев. Ооциты получали путем трансвагинальной пункции фолликулов. В качестве промывной жидкости использовали фосфатно-солевой буфер Дюльбекко. Локализацию ооцит-кумулясных комплексов проводили с помощью минифильтра Minifiltro para Oocitos (WTA-Бразилия). Поиск и оценку качества полученных ооцитов осуществляли под бинокулярным микроскопом Olympus при 16- и 90-кратном увеличении соответственно. Пригодные для созревания ооцит-кумулясные комплексы помещали в культуральную среду созревания и помещали в мультигазовый инкубатор «ESCO» при температуре 38,7 °С с максимальной влажностью 96-98 %, уровнем углекислоты и кислорода 5 %, азота 90 %. Подготовку спермы проводили с использованием градиента плотности Перколл. Совместная инкубация ооцитов со спермой продолжалась в течение 18-20 ч при температуре 38,7 °С и максимальной влажности. Эмбрионы инкубировались до получения предимплантационных стадий развития.

Математическую обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики с учетом критерия достоверности по Стьюденту с использованием программного пакета Microsoft Excel.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Одним из основных этапов ОРУ, во многом определяющим последующую эффективность всего процесса получения эмбрионов в культуре *in vitro*, является количество и качество полученных ооцит-кумулясных комплексов (таблица 1).

Анализ данных, представленных в таблице 1, показывает, что по результатам 58 аспираций было получено 595 ооцитов, или 10,3 ооцита на донора. При этом доля ооцитов, пригодных для дальнейшего дозревания, составила 84,9 %, в т. ч. отличных и хороших – 48,4 %, удовлетворительных и условно годных – 36,5 %. Кроме этого, получено 15,1 % непригодных клеток. По уровню выхода ооцит-кумулясных

комплексов аспирации распределились следующим образом: с низким уровне выхода – до 3 клеток – 12 аспираций (20,7 %), средним и выше среднего – 4-7 и 8-12 клеток соответственно – по 13 аспираций (22,4 %) и высоким – свыше 12-20 аспираций (34,5 %).

Таблица 1 – Выход ооцитов при трансвагинальной аспирации и их распределение по качеству

Выход ооцитов			Качество ОКК				
			отличных и хороших	удовл. и условно-годных	всего пригодных	не пригодных	всего
низкий (до 3-х)	n = 12	всего	14	11	25	2	27
		на донора	1,2 ± 0,20	0,9 ± 0,19	2,1 ± 0,19	0,2 ± 0,11	2,3 ± 0,21
средний (4-7)	n = 13	всего	28	33	61	12	73
		на донора	2,5 ± 0,26	2,8 ± 0,20	4,7 ± 0,30	0,9 ± 0,20	5,6 ± 0,20
выше среднего (8-12)	n = 13	всего	56	52	108	14	122
		на донора	4,7 ± 0,14	4,0 ± 0,30	8,3 ± 0,23	1,1 ± 0,22	9,5 ± 0,25
высокий (свыше 12)	n = 20	всего	190	121	311	62	373
		на донора	9,5 ± 0,58	6,1 ± 0,38	15,6 ± 0,55	3,1 ± 0,27	18,7 ± 0,71
ИТОГО	n = 58	всего	288	217	505	90	595
		на донора	5,0 ± 0,29	3,7 ± 0,27	8,7 ± 0,32	3,1 ± 0,20	10,3 ± 0,34

Влияет ли количество ооцитов, полученных в процессе пункции фолликулов, на последующий выход эмбрионов? Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Взаимосвязь количества полученных ооцитов с выходом эмбрионов

Уровень выхода ОКК		Получено на донора / аспирацию				Выход эмбрионов, %	
		всего	ОКК		Эмбрионов	От полученных ОКК	От пригодных ОКК
			в т. ч. пригодных				
	n		n	%			
Низкий (до 3-х)	n = 12	2,3 ± 0,21	2,1 ± 0,19	92,6	0,3 ± 0,18	14,8	16,0
Средний (4-7)	n = 13	5,6 ± 0,20	4,7 ± 0,30	83,6	1,7 ± 0,27	27,4	32,8
Выше среднего (8-12)	n = 13	9,5 ± 0,25	8,3 ± 0,23	87,1	3,0 ± 0,26	29,8	34,3
Высокий (свыше 12)	n = 20	18,7 ± 0,71	15,6 ± 0,55	83,4	3,0 ± 0,26	14,7	17,7

Анализ результатов, представленных в таблице 2, показывает, что выход эмбрионов у доноров со средним уровнем выхода ооцитов (4-7), а также с уровнем выше среднего (8-12) практически в два раза превышал данный показатель у доноров с низким и высоким уровнем выхода ооцитов – 32,8 и 34,3 % против 16,0 и 17,7 % при расчете от числа пригодных или оплодотворенных ооцитов и 27,4 и 29,8 % против 14,8 и 14,7 % при расчете от числа полученных ОКК.

В таблице 3 представлено распределение аспираций по выходу эмбрионов.

Как показывает анализ данных, представленных в таблице 3, из 54 аспираций у 10 (18,5 %) не получено ни одного эмбриона, у следующих 18,5 % (n = 10) – по одному на аспирацию, у 24,1 % (n = 13) – по 2, у 20,4 % (n = 11) – по 3 и у 18,5 % (n = 10) – более трех ооцитов на каждую аспирацию.

Таблица 3 – Распределение аспираций по выходу эмбрионов

Выход эмбрионов на аспирацию	Кол-во аспираций		Получено ОКК					Получено эмбрионов
	n	%	всего	Отличных, хороших	Удовл., условно-годных	Всего пригодных	Не пригодных	
0	10	18,5	64	26	28	54	10	-
			4,6 ± 1,32	2,4 ± 0,67	2,2 ± 0,41	3,9 ± 0,99	0,7 ± 0,40	
1	10	18,5	85	39	32	71	14	10
			8,5 ± 1,68	4,3 ± 0,85	3,6 ± 0,71	7,1 ± 1,60	1,4 ± 0,37	
2	13	24,1	98	44	33	77	21	26
			10,2 ± 1,97	4,7 ± 1,08	3,8 ± 0,70	8,2 ± 1,32	1,9 ± 0,70	
3	11	20,4	162	90	45	135	27	33
			14,7 ± 2,93	8,2 ± 1,82	4,1 ± 0,77	12,3 ± 2,27	2,5 ± 0,77	
боле 3	10	18,5	154	72	66	138	14	56
			15,4 ± 1,87	7,2 ± 1,58	6,6 ± 1,20	13,8 ± 1,40	1,4 ± 0,75	

Эффективность получения эмбрионов в культуре *in vitro* во многом определяется оплодотворяющей способностью спермы. В наших исследованиях была использована сперма 8 быков-производителей. Подготовка спермы к оплодотворению, как и само оплодотворение, проходила в одинаковых условиях. По результатам оплодотворения получены данные, представленные в таблице 4.

Таблица 4 – Выход эмбрионов в зависимости от используемого быка при оплодотворении

Бык, кличка / номер	Кол-во доноров, n	Получено ОКК		Оплодотворено ОКК	Дробящаяся за-родышей	Выход эмбрионов	
		всего	пригодных			всего	от числа оплодотворенных ОКК, %
1	2	3	4	5	6	7	8
Taz / 551HO03420	22	188	159-84,6	159-84,6	93-58,5	43	27,0
		8,5 ± 1,51	7,2 ± 1,26	7,2 ± 1,26	4,2 ± 0,75	2,0 ± 0,36	
Amin / 551HO04148	6	56	45-80,4	45-80,4	15-33,3	9	20,0
		9,3 ± 2,38	7,5 ± 1,56	7,5 ± 1,56	2,5 ± 0,84	1,5 ± 0,56	

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8
Howl / 551HO03716	7	113	90-79,6	90-79,6	40-44,4	18	20,0
		16,1±3,34	12,9±2,60	12,9±2,60	5,7 ± 1,17	2,6 ± 0,84	
Merven / 551HO04147	9	107	90-84,1	90-84,1	49-54,4	27	30,0
		11,9±2,87	10,0±2,32	10,0±2,32	5,4 ± 0,73	3,0 ± 0,75	
Watson / 551HO03637	10	74	64-86,5	64-86,5	37-57,8	16	25,0
		7,4 ± 1,71	6,4 ± 1,46	6,4 ± 1,46	3,7 ± 0,52	1,6 ± 0,65	
Hardball / 551HO03851	1	19	19-100	19-100	6-31,6	5	26,3
Dawson / 551HO03720	1	12	12-100	12-100	9-75	5	41,7
Varsity / 551HO04303	1	15	13-86,7	13-86,7	6-46,2	1	8,3

Наиболее эффективным оказалось оплодотворение ооцитов спермой быка Dawson-551HO03720, у которого выход эмбрионов от числа оплодотворенных ОКК составил 41,7 %, что на 11,7-33,4 п. п. выше по сравнению с другими быками-производителями, самый низкий выход эмбрионов отмечен у быка Varsity-551HO04303 – 8,3 %. Однако необходимо иметь в виду тот факт, что спермой этих быков с максимальным и минимальным выходом эмбрионов были оплодотворены ооциты только одного донора, в то время как спермой других быков оплодотворены ооциты от 6 до 22 доноров с достаточно высоким выходом эмбрионов – от 20 до 30,0 %, поэтому говорить о превосходстве быка Dawson-551HO03720 в данном случае не представляется возможным.

Практика получения эмбрионов в культуре *in vitro* показывает, что первые бластоцисты могут появиться уже на 6-й день после оплодотворения при условии, что день оплодотворения – это нулевой день. Этот процесс продолжается до 9-го, а иногда и до 10-го дня культивирования. В наших исследованиях доля бластоцист шестого дня составила 13,6 % (17 из 125), седьмого – 57,6 % (72 из 125), восьмого – 22,4 % (28 из 125) и девятого – 6,4 % (8 из 125).

Существует мнение о том, что более высокая скорость развития эмбрионов свидетельствует об их более высокой жизнеспособности. В таблице 5 представлены результаты трансплантации эмбрионов в зависимости от их возраста.

Таблица 5 – Эффективность трансплантации эмбрионов в зависимости от их возраста

Возраст эмбриона, дн.	Количество пересадок, n	Стельных реципиентов, n	Уровень стельности, %
6	17	11	64,7
7	67	29	43,3
8	20	1	5,0

Из представленных данных видно, что уровень стельности после пересадки бластоцист шестого и седьмого дня на 38,3 и 59,7 п. п.

превосходил уровень стельности после трансплантации blastocyst восьмого дня, при достоверной разнице $P \leq 0,001$.

В таблице 6 представлена эффективность трансплантации эмбрионов от доноров, у которых получены blastocyst разных дней развития.

Анализ данных показывает, что приживляемость эмбрионов от доноров, от которых получены blastocyst только 6-го дня, составила всего лишь 33,3 %, в то время как у доноров, от которых получены blastocyst в возрасте 6-9-го дней, уровень стельности колебался в пределах от 50,0 до 100 % и в среднем составил 58,8 %, что на 25,5 п. п. выше по сравнению с пересадкой эмбрионов от тех доноров, у которых получены blastocyst только 6-го дня.

Таблицы 6 – Эффективность трансплантации эмбрионов от доноров, у которых получены blastocyst разных дней развития

День культивирования	Кол-во голов, п- %	Получено эмбрионов, п- %	Пересажено эмбрионов	Произведено пересадок	Степень реципиентов	Уровень стельности, %	
						от пересаженных эмбрионов	от количества пересадок
6	2-4,5	6-4,8	6	6	2	33,3	33,3
6,7	2-4,5	10-8,0	10	10	5	50,0	50,0
6,8	1-2,3	6-4,8	2	2	2	100	100
6,9	1-2,3	6-4,8	5	5	3	60,0	60,0
7	15-34,1	28-22,4	28	23	12	41,3	52,2
7,8	14-31,8	44-35,2	41	41	10	24,4	24,4
7,9	4-9,1	18-14,4	12	12	7	58,3	58,3
8	4-9,1	6-4,8	5	5	-	-	-
Итого	44	125	109	104	41	37,6	39,4

Уровень стельности был значительно выше после трансплантации эмбрионов от доноров, у которых были получены blastocyst только 7-го дня и эмбрионы 7-го, 9-го дней. Это превосходство по отношению к донорам, от которых получены blastocyst 7-го, 8-го дней, составило 27,8 и 33,9 п. п. соответственно. Стельностей после пересадки эмбрионов от доноров, от которых получены blastocyst только 8-го дня, не установлено. Из вышеизложенного вытекает следующее: blastocyst 6-го дня, в отличие от эмбрионов 7-го дня, показывают высокую приживляемость в том случае, когда они получены в группе с эмбрионами других возрастов.

В таблице 7 показаны результаты по трансплантации эмбрионов *in vitro* в зависимости от дня полового цикла реципиента.

Таблица 7 – Влияние дня полового цикла реципиентов на уровень стельности

День полового цикла	Произведено пересадок	Стельных реципиентов	Уровень стельности
6	34	14	41,2
7	51	23	45,1
8	19	4	21,1
ИТОГО	104	41	39,4

Из данных таблицы 7 видно, что наиболее эффективными оказались пересадки эмбрионов реципиентам на шестой и седьмой день после установленной охоты. Приживляемость при этом составила 41,2 и 45,1 %, что на 19,8 и 24,0 п. п. выше по сравнению с трансплантацией эмбрионов реципиентам на восьмой день. Наиболее эффективной оказалась трансплантация бластоцист реципиентам, находящимся на шестом и седьмом дне полового цикла.

Результаты пересадки бластоцист с учетом их возраста и стадии полового цикла реципиентов представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Влияние синхронизации возраста эмбриона с днем полового цикла реципиента на результативность эмбриопересадок

День полового цикла	Возраст эмбриона								
	6			7			8		
	Пересадок	Стельных реципиентов	Уровень стельности, %	Пересадок	Стельных реципиентов	Уровень стельности, %	Пересадок	Стельных реципиентов	Уровень стельности, %
6	8	6	75,0	20	8	40,0	7	0	0
7	4	4	100	35	18	50,0	11	1	9,1
8	5	1	20,0	12	3	25,0	2	0	0
Итого	17	11	64,7	67	29	43,3	20	1	5

Представленные данные показывают, что наиболее высокая приживляемость получена при трансплантации 6-дневных бластоцист 6- и 7-дневным реципиентам. Уровень стельности составил 75 и 100 % соответственно, что в 3,6 и 5,0 раз выше по сравнению с аналогичными пересадками реципиентам 8-го дня полового цикла. Более низкие, но схожие результаты получены и при пересадке бластоцист 7-го дня. Уровень стельности оказался на 15,0 и 25,0 п. п. выше при пересадке реципиентам 6-го и 7-го дня по сравнению с пересадкой реципиентам 8-го дня полового цикла, но на 35 и 50 п. п. ниже с аналогичными пересадками эмбрионов 6-го дня.

В качестве реципиентов для трансплантации эмбрионов нами использовали телки разных возрастов, а также коровы.

Таблица 9 – Влияние возраста реципиента на приживляемость эмбрионов

Возраст реципиентов, мес	Количество пересадок, п	Количество стельных реципиентов, п	Уровень стельности, %
12	10	2	20
13	45	17	37,8
14	32	17	53,1
15	3	1	33,3
16	2	-	-
коровы	12	4	33,3

Анализ результатов, представленных в таблице 9, показывает, что при пересадке эмбрионов реципиентам в возрасте 14 месяцев уровень стельности составил 53,1 %, что на 13,3-19,8 п. п. выше по сравнению с пересадками телкам других возрастов и коровам.

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что средний выход ооцитов на одну аспирацию составил 10,3 ОКК, доля пригодных для постановки на дозревание – 84,9 %, из которых 48,4 % ооцит-кумулюсных комплексов оказалось отличного и хорошего качества. Доля аспираций с уровнем выхода ооцитов выше среднего и высоким уровнем выхода составила 56 %. При этом выход эмбрионов после оплодотворения оказался значительно более высоким у групп животных со средним и вышесредним уровнем выхода ооцитов. Разница по отношению к другим группам составила 12,1-18,3 п. п. Выход эмбрионов от числа оплодотворенных ооцитов колебался в зависимости от используемого быка от 8,3 до 41,7 % при среднем показателе 25,2 %. Наиболее высокая эмбриопродуктивность отмечена быка Dawson-551HO03720 (41,7 %), а наименьшая – у быка Varsity-551HO04303 (8,3 %).

Доля аспираций, по результатам которых не получено ни одного эмбриона, по одному эмбриону на аспирацию и свыше 3 составила по 18,5 % по каждой группе животных, по 2 – 24,1 % и по 3 – 20,4 %.

Если в целом уровень стельности после пересадки эмбрионов шестого дня составлял 64,7 %, то данный показатель при пересадке blastocyst от доноров, от которых получены blastocyst только 6-го дня, снижался на 31,4 п. п., или до 33,3 %. В то время как уровень стельности после трансплантации эмбрионов 6-го дня от доноров, от которых получены blastocyst и на 6, и 9 день, составил в среднем 58,8 %. Превосходство по уровню стельности после пересадки blastocyst от доноров, от которых получены blastocyst только на седьмой день, и от доноров, от которых полученных blastocyst на 7 и 9 день, по отношению к blastocystам, полученным от доноров на 7 и 8 день культивирования, составило 27,8 и 33,9 п. п. соответственно. При пересадке эмбрионов от

доноров, от которых получены бластоцисты только 8 дня, стельностей не установлено.

Наиболее эффективной оказалась трансплантация эмбрионов 6-го дня реципиентам на 6-й и 7-й день полового цикла. Уровень стельности при этом составил 75 и 100 % соответственно. Эмбрионы 7-го дня предпочтительней пересаживать реципиентам на седьмом дне полового цикла с приживляемостью 50,0 %. Эмбрионы 8-го дня показали самую низкую приживляемость по всем вариантам пересадок. Из 20 реципиентов, которым пересаживались бластоцисты 8-го дня, стельность установлена только у одной.

Установлено, что пересадка эмбрионов телкам-реципиентам в возрасте 14 месяцев оказалась наиболее эффективной. Уровень стельности составил 53,1 %, что на 15,3-33,1 п. п. выше по сравнению с телками других возрастов и на 19.8 п. п. выше по сравнению с коровами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boni, R. Ovum pick-up in cattle: a 25 yr retrospective analysis / R. Boni // *Animal Reproduction Science*. – 2012. Vol. 9. – P. 362-369.
2. Bousquet, D. In vitro embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach / D. Bousquet // *Theriogenology*. – 1999. – Nr. 51 (1). – P. 59-70.
3. Camargo LSA, Viana JHM, Sá WF, Ferreira AM, Ramos AA, Vale Filho VR. Factors influencing in vitro embryo production. *Anim Reprod*. 2006; 3 (1): 19-2817.
4. Christensen LG. Use of embryo transfer in future cattle breeding schemes. *Theriogenology* 1991; 35:141-156
5. Fisher P. et al. Short message: Opportunities for genomic selection of bovine embryos. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 2012. V. 72. S. 152–158. [Google Scholar]
6. Bovine embryo technologies / C. Galli [et al.] // *Theriogenology*. – 2003. – V. 59. – P. 599-616.
7. Gengler N, Druet T. Impact of biotechnology on animal breeding and genetic progress. In *Biotechnology in Animal Husbandry*. Springer, Dordrecht, 2001, 33-45
8. Humblot P. Reproductive technologies and epigenetics: their implications for genomic breeding in cattle. *Acta Sci. Vet.* 39 (add. 1), 253–262 (2011). [Google Scholar]
9. Joao HM Viana 2020 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. World embryo industry grows despite the Pandemic by Joao HM Viana, Chair – IETS Data Retrieval Committee (henrique.viana@embrapa.br) In: *Embryo Technology Newsletter*, v. 39, n.4, 2021
10. Potential use of Ovum Pick-Up for embryo production and breeding in cattle // T. Kruij [et al.] // *Theriogenology*. – 1994. – Vol. 42. – P. 675-683.
11. Wilson R.D., Weigel K.A., Fricke P.M. e.a. In vitro production of Holstein embryos using sex-sorted sperm and oocytes from selected cull cows. *J. Dairy Sci.*, 2005, 88: 776-782