DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-3-1

УДК : 619:618.177-089.888.11

Сравнительная оценка эффективности приживляемости интактных и бисекционных эмбрионов после трансплантации телкам-реципиентам

Бригида А.В.
Brigida A.V.

Бригида А.В., заместитель директора по развитию и инновациям, ведущий научный сотрудник, brigida_86@mail.ru

Скачкова О.А., заведующий научно-организационным отделом, oaskachkova@mail.ru

Ковальчук С.Н., к.б.н., врио директора, s.n.kovalchuk@mail.ru

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий", 127422, Москва, ул. Костякова, дом 12, стр. 4, e-mail: info-ceerb@mail.ru

Работа выполнена в рамках госзадания 075-01250-20-01

Ключевые слова: крупный рогатый скот, воспроизводство, трансплантация эмбрионов, бисекция эмбрионов.

Резюме. Одним из основных методов ускоренного воспроизводства крупного рогатого скота является технология трансплантации эмбрионов, принцип которой заключается в получении от перспективной коровы-донора множества эмбрионов методом стимуляции полиовуляции и их пересадке телкам-реципиентам для вынашивания плода и рождения телят. Количество эмбрионов, полученных от коровы-донора, возможно значительно увеличить, применив метод бисекции зародышей, основой которого является микрохирургическое деление эмбриона на ранних стадиях его развития на две равные половинки, способные в дальнейшем сформировать полноценный качественный эмбрион. Интерес к методу остается высоким в течение многих лет, однако в практике животноводства он не получил широкого распространения. Цель исследования состояла в изучении уровня приживляемости нативных интактных и бисекционных эмбрионов крупного рогатого скота, пересаженных телкам-реципиентам. При проведении исследования животных разделили на две группы. Телкам в группе I провели пересадку 79 интактных эмбрионов, а в группе II провели пересадку 128 бисекционных эмбрионов (дорощенные половинки интактных эмбрионов, подвергшихся разделению пополам). В обеих группах пересадку эмбрионов проводили в краниальную часть рога матки реципиента с использованием катетера для аппликации эмбрионов по одному эмбриону одному животному. Показано, что

Comparative Assessment of Efficiency of Intact and Bisected Embryos Engraftment after transfer into Heifers Recipients

Brigida A.V.,
Skachkova O.A.,
Kovalchuk S.N.

FSBI Center of experimental embryology and reproductive biotechnologies, 127422, Moscow, ul. Kostyakova, 12, str.4, e-mail: info-ceerb@mail.ru

Key words: cattle, reproduction, embryo transfer, embryo bisection.

Abstract. One of the main methods of accelerated reproduction of cattle is embryo transfer technology, the principle of which consists in obtaining plurality of embryos from a promising donor cow by induction of polyovulation and transfer them to recipient heifers for gestation and birth of calves. The number of embryos obtained from a donor cow can be significantly increased by applying the method of embryo bisection, the basis of which is the microsurgical division of the early embryo into two equal halves, which can subsequently form a high-quality embryos. Interest in the method has remained high for many years, but it has not been widely used in animal husbandry. The purpose of the study was to examine the level of engraftment of native intact and bisectional cattle embryos transferred to recipient heifers. In the study animals were divided into two groups. The heifers of group I underwent transplantation of 79 intact embryos, whereas heifers of group II underwent transplantation of 128 bisectional embryos (grown halves of intact embryos). In both groups, embryo transfer was performed in the cranial part of the recipient uterine horn (one embryo per animal) using a embryo transfer catheter. It was shown that the result of embryo engraftment was 68.35% in group I and 39.84 % in group II, which indicates a low level of engraftment of bisectional embryos. Studies have shown that the method of increasing the number of embryos obtained from donor cows may appear another potential way to solve the problem of accelerated reproduction of highly productive animals by search of new methods to help improve the level of engraftment bisectional embryos in heifers recipient.

результат приживляемости эмбрионов в группе I составил 68,35 %, а в группе II - 39,84 %, что свидетельствует о низком уровне приживляемости бисекционных эмбрионов. Проведенные исследования показали, что метод увеличения количества эмбрионов, полученных от коровы-донора, может явиться еще одним потенциальным способом решения проблемы ускоренного воспроизводства высокопродуктивных животных при условии изыскания новых методов, способствующих повышению уровня приживляемости бисекционных эмбрионов у телок-реципиентов.

Технология трансплантации эмбрионов, являясь биотехнологическим решением ускоренного воспроизводства крупного рогатого скота, позволяет в кратчайшие сроки тиражировать генетический материал в виде зародышей на ранних стадиях развития, получаемых от высокопродуктивных коров-доноров с последующим переносом этих эмбрионов в репродуктивные органы телок-реципиентов для вынашивания плода и рождения телят-трансплантантов [1].

Для цитирования / For citation

Бригида, А.В. Сравнительная оценка эффективности приживляемости интактных и бисекционных эмбрионов после трансплантации телкам-реципиентам / А.В. Бригида, О.А. Скачкова, С.Н. Ковальчук // Ветеринария и кормление. - 2020. - №3 - С. 4-7.

Brigida, A.V. Comparative Assessment of Efficiency of Intact and Bisected Embryos Engraftment after transfer into Heifers Recipients / A.V. Brigida, O.A. Skachkova, S.N. Kovalchuk // Veterinaria i kormlenie. - 2020. - №3 - P. 4-7.

При этом, в качестве реципиентов возможно использование беспородного и низко продуктивного скота [2-4].

В процессе данной технологии выход качественных эмбрионов от коров-доноров мясного направления продуктивности, как правило, составляет, в среднем, 5-6 шт. за одну сессию индукции полиовуляции яичников, проведенной у коров-доноров с использованием гонадотропных препаратов. Данный объем получаемых эмбрионов, пригодных к пресадке, недостаточен для ускорения темпов воспроизводства высокопродуктивных животных, что является серьезной проблемой в мясном скотоводстве.

Существует метод увеличения количества эмбрионов, полученных от коров-доноров методами *in vivo* или *in vitro*, в ходе которого эмбрион на ранней стадии его развития (морула или бластоциста) разделяют микрохирургическим способом на две равные части (бисекция), каждая из которых способна регенерировать утраченную часть за счет положительного свойства - тотипотентности, присущего зародышам [5].

После разделения эмбриона пополам с условием сохранения половины бластомассы зародыша и при культивировании половинок эмбриона в условиях *in vitro* в соответствующей питательной среде, каждая из половинок формирует цельный эмбрион, который способен к дальнейшему развитию в полноценный организм (далее - бисекционный эмбрион) [6]. По своей сути разделение эмбрионов микрохирургическим методом является простейшим способом получения генетически идентичных (монозиготных) телат. Биологическое свойство зародыша восстанавливать целостность из своей половинки, полученной путём бисекции интактного эмбриона, в течение многих десятилетий привлекает внимание исследователей с целью увеличения количества эмбрионов, пригодных для пересадки [7-9]. Предполагается, что внедрение метода разделения эмбрионов в промышленное животноводство могло бы значительно ускорить размножение крупного рогатого скота как мясного, так и молочного направлений продуктивности. Однако на сегодняшний день получение бисекционных эмбрионов и их пересадка реципиентам остается на уровне экспериментов по причине того, что не преодолена проблема низкой приживляемости бисекционных эмбрионов. Так, по данным Hashiyada Y. (2017), получение полноценных пар эмбрионов варьирует в пределах 39,7 до 76,1%, а их приживляемость после пересадки в репродуктивные органы реципиентов достигает 36,4 - 53,2% [10]. По сообщениям Lopatarova M. с соавт. (2008) приживляемость бисекционных эмбрионов крупного рогатого скота составляла 48,8%-56,5% [5]. При этом, имеются данные, что эмбриональная гибель бисекционных эмбрионов фиксируется значительно чаще в сравнении с интактными [9]. Многие вопросы остаются актуальными при реализации метода бисекции эмбрионов крупного рогатого скота, в том числе вопросы минимизации повреждения эмбриона во время процедуры бисекции, а также разработки способов культивирования для эффективного доразрастания половинок разделенного эмбриона, что, в целом, могло бы способствовать повышению приживляемости бисекционных эмбрионов после пересадки реципиенту [11-16].

В связи с перспективностью применения метода бисекции эмбрионов целью данной работы явилось определение эффективности метода бисекции как инструмента увеличения количества эмбрионов, пригодных к пересадке, а также изучение уровня приживляемости бисекционных и интактных эмбрионов крупного рогатого скота, трансплантированных телкам-реципиентам.

Материалы и методы

Исследования проведены в период с августа 2018 г. по август 2019 г. на базе ООО "СП "Николаевское", Брянская область. От коров-доноров (n=11) герефордской породы (мясное направление продуктивности), которым в течение года было проведено по 3-5 сессий индукции полиовуляции яичников препаратом Плюснет (Laboratorios Calier, S.A., Испания) и было проведено их осеменение, были получены

зародыши (n=264) на ранних стадиях развития в процессе извлечения, проводимого на 7-й день полового цикла. Для морфологической оценки зародышей в эмбриосборе применяли стереомикроскоп МБС-10 с микрографическим устройством МФУ и телевизионной камерой VEC-545 - USB (АО "Лыткаринский завод оптического стекла", Россия). При морфологической оценке зародышей были отобраны эмбрионы, классифицированные согласно ГОСТ 28424-2014, как отличного и хорошего качества на стадиях поздней морулы и ранней бластоцисты в количестве 176 штук. Данные эмбрионы были разделены на две группы. В группе I (n=94) эмбрионы остались интактными и были инкубированы при комнатной температуре +240 С на протяжении 12-36 ч. в среде для культивирования "Embryo holding medium" (E.G.G. Technologies Int Ltd IMV technologies, Франция) до перехода эмбриона в стадию развития "экспандированная бластоциста". В группе II (n=82) интактные эмбрионы, в числе которых было 48 эмбрионов на стадии поздней морулы и 34 - на стадии ранней бластоцисты, подверглись манипуляции бисекции, в процессе которой все эмбрионы были рассечены по центру на две части с сохранением половины бластомассы в каждой из долей.

Бисекцию эмбрионов проводили под визуальным наблюдением через бинакулярный стереомикроскоп Nikon SMZ745 ("Nikon Corporation", Япония) под увеличением в 60-100 раз и более. Инструментом для рассечения эмбрионов служил микрохирургический офтальмологический скальпель, снабженный металлическим лезвием. Во время микроманипуляций эмбрионы находились в фосфатно-солевом буферном растворе Дюльбекко (DPBS) (ООО "Пан-Эско", Россия). Эмбрион фиксировали в вертикальной плоскости и краем лезвия производили разделение от вершины зоны пеллюцида строго посередине с соблюдением полярности и местоположения бластомеров внутри эмбриона. При микрохирургическом делении эмбрионов в процессе манипуляции допускали не более 20% потери бластомеров. В результате бисекции эмбрионов в группе II (n=82) были получены 164 половинки, из них на стадии поздней морулы находились 96 половинок и на стадии ранней бластоцисты - 68 половинок (таблица 1).

Все полученные половинчатые эмбрионы были помещены в среду для культивирования "Embryo holding medium" (E.G.G. Technologies Int Ltd IMV technologies, Франция), в которой они были инкубированы при комнатной температуре +240 С для восстановления своей обычной формы. Затем через час после бисекции половинчатые эмбрионы подвергались проверке на предмет восстановления целостности оболочки - зоны пеллюцида. Из 164 половинок 22 (13,41 %) пришли в негодность, в том числе по причине ассиметричного деления при осуществлении манипуляций по бисекции, у оставшихся 142 половинок (86,59 %) были зафиксированы признаки восстановления целостности оболочки и формирование сферической формы, присущей цельному эмбриону (бисекционный эмбрион).

Количество восстановившихся половинок (бисекционные эмбрионы) в группе II, полученных из эмбрионов на стадии поздней морулы, было меньше на 10,36 % в сравнении с восстановившимися половинками, полученными в этой же группе из эмбрионов на стадии ранняя бластоциста. Это свидетельствует о том, что эмбрионы на стадии поздней морулы больше подвержены в процессе бисекции травмированию (разрушению), приводящему к гибели получаемой половинки эмбриона. Однако при этом, число восстановившихся половинок, полученных из эмбрионов на стадии поздней морулы, продолживших свое развитие и достигших стадии "экспандированная бластоциста" было на 7,96 % больше, чем половинок, полученных из эмбрионов на стадии ранняя бластоциста и развившихся до стадии "экспандированная бластоциста". Возможным объяснением этого факта может служить более высокий уровень тотипотентности зародышей, находящихся на стадии поздней морулы.

Таблица 1 – Эффективность бисекции эмбрионов крупного рогатого скота в группе II							
Table 1 - The efficiency of bisection of bovine embryos in group II							
Стадия развития эмбриона	Колич-во эмбрионов/половинок эмбрионов, n	Половинки эмбрионов, пришедшие в негодность		Восстановившиеся половинки эмбрионов (бисекционные эмбрионы)		Бисекционные эмбрионы достигшие стадии «экспандированная бластоциста»	
		Кол-во, n	%	Кол-во, n	%	Кол-во, n	%
Поздняя морула	48/96	17	17,71±3,94	79	82,29±3,94	74	93,67±2,77
Ранняя бластоциста	34/68	5	7,35±3,21*	63	92,65±3,21*	54	85,71±4,48
* при P≤0,05							

Далее, для эмбрионов группы II, восстановивших свою оболочку, было продолжено культивирование на протяжении 12-36 ч. в той же среде до достижения стадии развития экспандированная бластоциста, что обеспечивало идентичность стадий развития эмбрионов в обеих экспериментальных группах непосредственно перед пересадкой эмбрионов в репродуктивные органы телкам-реципиентам.

В ходе проведенного эксперимента эмбрионы, достигшие стадии развития экспандированная бластоциста (интактные эмбрионы группы I в количестве 94 шт и бисекционные эмбрионы группы II в количестве 128 шт), подлежали трансплантации предварительно подготовленным телкам-реципиентам швицкой породы по одному зародышу из расчета на одно животное. Подготовка реципиента к пересадке эмбриона состояла в синхронизации полового цикла реципиента с половым циклом коровы-донора, от которой на седьмой день её полового цикла получают эмбрион. Для этого реципиенту проводили стимуляцию полового цикла с применением препарата Энзапрост Т (Франция) в дозе 5 см3 из расчета на одного животного. Через 48-72 часа у реципиента осуществляли диагностику признаков половой охоты, день выявления которых регистрировали как нулевой день полового цикла. От зафиксированного нулевого дня вели отсчет седьмого дня полового цикла, предназначенного для пересадки эмбриона реципиенту. Данная процедура на момент пересадки эмбриона реципиенту позволяет создать условия внутриматочной среды и гормонального фона у реципиента, схожие с аналогичными условиями репродуктивных органов донора на седьмой день его полового цикла, когда у донора получают эмбрион.

Интактные эмбрионы из группы I и бисекционные эмбрионы из группы II были пересажены реципиентам на седьмой день индуцированного полового цикла у реципиента, в краниальную часть рога матки ипсилатерально желтому телу на яйчнике, по одному на реципиента. Пересадку эмбрионов проводили при помощи авторского устройства для аппликации эмбрионов (патент РФ №154919). Было принято решение для пересадки эмбрионов группы I использовать 79 эмбрионов из 94 достигших стадии экспандированной бластоцисты по причине ограниченного числа реципиентов. Диагностику стельности проводили на 30-й и 60-й день методом эхографической визуализации с использованием УЗИ-сканера EASI SCAN E4 ("BCF Technology", Великобритания). Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2016.

Результаты исследований

При наблюдении за половинчатыми эмбрионами (n=164), полученными методом бисекции из интактных эмбрионов в группе II (n=82), было отмечено, что у большинства полученных половинок в процессе культивирования была зафиксирована тенденция к восстановлению целостности оболочки. При этом, 142 (86,59 %) половинки сформировались в цельный эмбрион, прошли развитие до стадии экспандированной бластоцисты и на основании результатов морфологической оценки были признаны пригодными к пересадке. Таким образом, в ходе исследования установлено, что метод бисекции позволяет увеличить количество эмбрионов, пригодных к пересадке, в группе II на 60 шт. (на 73,17%). Это свидетельствует о том, что метод

бисекции является практически применимым способом повышения исходного количества интактных эмбрионов, пригодных к последующей пересадке.

Для определения уровня приживляемости интактных и бисекционных эмбрионов на следующем этапе исследования была выполнена диагностика стельности на 30-й день, отсчитываемый от нулевого дня полового цикла реципиента, с применением УЗИ-сканера. Выбор 30-го дня обусловлен тем, что диагностику стельности у реципиента, как правило, проводят на 28-32-й день, что является наиболее ранним периодом времени, когда посредством ультразвуковой эхографии возможна визуализация прижитого и развивающегося эмбриона. На основании результатов диагностики, свидетельствующих о наличии или отсутствии стельности возможно судить о наличии или отсутствии приживляемости эмбриона после его трансплантации в репродуктивные органы реципиента.

Проведенный анализ полученных результатов приживляемости интактных и бисекционных эмбрионов показал, что у реципиентов, которым были проведены пересадки интактных эмбрионов из группы I (n=79), на 30-й день стельность была диагностирована у 54 (68,35±5,30) животных. У реципиентов, которым были трансплантированы бисекционные эмбрионы из группы II (n= 128), на 30-й день стельность диагностировали у 51 (39,84±4,36) животных. Из этого следует, что приживляемость бисекционных эмбрионов из группы II (39,84 %) на 29,05 % ниже, чем аналогичный показатель при пересадке интактных эмбрионов из группы I (68,35 %) (таблица 2). При этом, различия между средними значениями показателей стельных реципиентов, которым были трансплантированы эмбрионы из группы I и из группы II на 30-й день полового цикла, были достоверны на уровне значимости P < 0,01.

Таким образом, полученные данные о более низком уровне приживляемости бисекционных эмбрионов из группы II (39,84 %), пересаженных в репродуктивные органы реципиентов, в сравнении с уровнем приживляемости интактных эмбрионов из группы I согласуются с данными других авторов, в том числе, Hashiyada Y. (2017), в исследовании которого указан диапазон приживляемости таких эмбрионов в пределах 36,4 - 53,2% [10]. Одним из возможных объяснений низкой приживляемости бисекционных эмбрионов может служить недостаточность эмбрионального сигнала о наличии стельности организму реципиента. Сигнал такого рода является специфичным фактором, широко распространенным у жвачных животных [17], однако механизм, лежащий в основе этого явления, до конца не изучен, в том числе в отношении бисекционных эмбрионов, полученных от коров-доноров.

Помимо диагностики стельности у реципиента, осуществленной на 30-й день, была проведена повторная диагностика стельности на 60-й день, отсчитываемый от нулевого дня полового цикла реципиента, что явилось заключительным этапом настоящего исследования.

Данное мероприятие направлено на подтверждение стельности, диагностированной на 30-й день, наличие которой на 60-й день свидетельствует о развивающемся зародыше, а отсутствие стельности - о его гибели. При повторной проверке на 60-й день было зафиксировано, что стельность сохранилась у 50 (63,29 %) реципиентов, которым были пересажены интактные эмбрионы из группы I, что на

Таблица 2 - Сравнительная оценка эффективности приживляемости интактных и бисекционных эмбрионов после трансплантации телкам-реципиентам
Table 2 - Comparative evaluation of the engraftment of the intact and bisected embryos after transfer to recipients heifers

Характеристика эмбрионов	Показатели		
	Кол-во гол. – пересадок, n	Стельных гол. на 30-й день, n (%)	Стельных гол. на 60-й день, n (%)
Группа I (интактные)	79	54 (68,35±5,30)	50 (63,29±5,49)
Группа II (бисекционные)	128	51 (39,84±4,36**)	45 (35,15±4,25**)
** при P<0,01			

5,06 % ниже, чем на 30-й день (68,35 %) в этой же группе. У реципиентов, которым были пересажены бисекционные эмбрионы из группы II, при повторной диагностике стельности, проведенной на 60-й день, наличие стельности было подтверждено у 45 (35,15±4,25) животных, что на 4,69 % ниже, чем на 30-й день (35,15 %) в этой же группе. Необходимо отметить, что различия между средними значениями показателей стельных телок-реципиентов, которым были пересажены эмбрионы из группы I и из группы II, на 60-й день были достоверны на уровне значимости $p < 0,01$. Таким образом, на 60-й день выявлены незначительные потери стельностей в обеих группах (I - 5,06 %; II - 4,69 %), что позволяет сделать вывод о том, что если эмбрион после его пересадки прижился и на момент наступления 30-го дня продолжает свое внутриутробное развитие, то в дальнейшем его развитие не зависит от того, применялся ли до пересадки в отношении него метод бисекции на ранней стадии его развития или эмбрион был пересажен интактным.

Как видно из вышеописанных результатов исследования, получены новые данные, свидетельствующие о применимости метода бисекции в составе в технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, который, несмотря на более низкий уровень приживляемости бисекционных эмбрионов в сравнении с интактными, может служить средством для увеличения исходного количества эмбрионов, полученных от высокопродуктивных коров-доноров и несущих в себе высокий генетический потенциал. Помимо того, в проведенном исследовании представлено экспериментальное подтверждение того, что бисекционный эмбрион, если он прижился после трансплантации реципиенту, то идентично интактному эмбриону, он способен к дальнейшему развитию. Важно заметить, что эти сведения имеют весомое значение для применения в ускоренном воспроизводстве такого малопродуктивного вида сельскохозяйственных животных, как крупный рогатый скот, характеризующийся длительным периодом вынашивания плода. По нашему мнению, при решении проблемы низкого уровня приживляемости бисекционных эмбрионов на основании новых комплексных исследований, вышеописанный метод микрохирургического деления эмбриона пополам может эффективно использоваться в практике эмбриотрансфера, увеличивая количество генетического материала в виде эмбрионов, полученных от высокопродуктивных коров, отобранных в качестве доноров эмбрионов.

Литература

1. Petroman, I. Utilization of gestagen hormones and pituitary FSH extracts in inducing the superovulation at embryo donor cows / I. Petroman, N. Pacala, C. Petroman, et. all. // Journal of food Agriculture & Environment. - 2009. - Vol. 7, №2. - P. 193-195.
2. Moore, S.G. A 100-Year Review: Reproductive technologies in dairy science / S.G. Moore, J.F. Hasler // Journal of dairy science. - 2017. - Vol. 100, №12. - P. 10314-10331.
3. Phillips, P.E. Embryo Transfer (Techniques, Donors and Recipients) / P.E. Phillips, E. Patrick, M.M. Jahnke // Veterinary clinics of North America - Food Animal. - 2016. - Vol. 32, №2. - P. 365-377.
4. Sartori, R. Endocrine and metabolic differences between Bostaurus and Bosindicus cows and implications for reproductive management / R. Sartori, P.L.Jr. Monteiro, M.C. Wiltbank // Animal Reproduction, 2016. - Vol. 13, №3. - P. 168-181.
5. Lopatarova, M. Sex determination in bisected bovine embryos and conception rate after the transfer of female demi-embryos / M. Lopatarova, S. Cech, P. Krontorad, et all. // Veterinarni medicina, 2008. - Vol. 53, № 11. - P. 595-603.
6. Matsumoto, K. Bisection of rat, goat and cattle blastocysts by metal blade / K. Matsumoto, M. Miyake, K. Utumi, A. Iritani // Jpn J Anim Reprod, 1987. - Vol. 33. P. 1 - 5.
7. Williams, T. J. Quick-splitting of bovine embryos / T.J. Williams, L. Moore // Theriogenology, 1988. - Vol. 29. - P. 477-484.
8. Yang, X.Z. Production of identical twin rabbits by micromanipulation of

embryos / X.Z. Yang, R.H. Foote // Biology Reproduction, 1987. - Vol. - 37. - P. - 1007-1014.
9. Saito S, Niemann H. In vitro and in vivo survival of bovine demi-embryos following simplified bisection and transfer of one or two halves per recipient / S. Saito, H. Niemann // Journal of Reproduction Development, 1993. - Vol. - 39. - P. 251-258.
10. Hashiyada, Y. The contribution of efficient production of monozygotic twins to beef cattle breeding / Y. Hashiyada // Journal of reproduction and development, 2017. - Vol. 63, №6. - P. 527-538.
11. Silva, J.C.E. Luteotrophic effect, growth and survival of whole versus half embryos and, their relationship with plasma progesterone concentrations of recipient dairy heifers / J.C.E. Silva, P. Diniz, L.L. de Coste // Animal reproduction science, 2008. - Vol. 104, № 1. - P. 18-27.
12. Ozil, J.P. Production of identical twin by bisection of blastocysts in the cow / J.P. Ozil // Journal of Reproduction and fertility, 1983. - Vol. 69, - P. 463-648.
13. Schwiderski, H. Production of identical - twins by microsurgical bisection of day 8 and 10 cattle embryos / H. Schwiderski, K. Roschlau, D. Oesterreich, et all. // Archiv fur tierzucht archives of animal breeding, 1985. - Vol. 28, № 6. - P. 485-490.
14. Warfield, S.J. Transfer of bovine demi-embryos with and without the zone pellucid / S.J. Warfield, G. E. Seidel, Jr. and R. P. Elsdon // Journal of Reproduction science, 1987. - Vol. 65, - P. 756-761.
15. Skrzyszowska, M. Cell loss in bisected mouse, sheep and cow embryos / M. Skrzyszowska, Z. Smorag // Theriogenology, 1989. - Vol. - 32. - P. 115-122.
16. Skrzyszowska M, Smorag Z, Katska L. Demi-embryo production from hatching of zona-drilled bovine and rabbit blastocysts / M. Skrzyszowska, Z. Smorag, L. Katska // Theriogenology, 1997. - Vol. - 48. - P. 551-557.
17. Пташинская, М. Краткое руководство по репродукции животных / М. Пташинская // Intervet International BV. - 2009. - 176 с.
References
1. Petroman, I. Utilization of gestagen hormones and pituitary FSH extracts in inducing the superovulation at embryo donor cows / I. Petroman, N. Pacala, C. Petroman, et. all. // Journal of food Agriculture & Environment. - 2009. - Vol. 7, №2. - P. 193-195.
2. Moore, S.G. A 100-Year Review: Reproductive technologies in dairy science / S.G. Moore, J.F. Hasler // Journal of dairy science. - 2017. - Vol. 100, №12. - P. 10314-10331.
3. Phillips, P.E. Embryo Transfer (Techniques, Donors and Recipients) / P.E. Phillips, E. Patrick, M.M. Jahnke // Veterinary clinics of North America - Food Animal. - 2016. - Vol. 32, №2. - P. 365-377.
4. Sartori, R. Endocrine and metabolic differences between Bostaurus and Bosindicus cows and implications for reproductive management / R. Sartori, P.L.Jr. Monteiro, M.C. Wiltbank // Animal Reproduction, 2016. - Vol. 13, №3. - P. 168-181.
5. Lopatarova, M. Sex determination in bisected bovine embryos and conception rate after the transfer of female demi-embryos / M. Lopatarova, S. Cech, P. Krontorad, et all. // Veterinarni medicina, 2008. - Vol. 53, № 11. - P. 595-603.
6. Matsumoto, K. Bisection of rat, goat and cattle blastocysts by metal blade / K. Matsumoto, M. Miyake, K. Utumi, A. Iritani // Jpn J Anim Reprod, 1987. - Vol. 33. P. 1 - 5.
7. Williams, T. J. Quick-splitting of bovine embryos / T.J. Williams, L. Moore // Theriogenology, 1988. - Vol. 29. - P. 477-484.
8. Yang, X.Z. Production of identical twin rabbits by micromanipulation of embryos / X.Z. Yang, R.H. Foote // Biology Reproduction, 1987. - Vol. - 37. - P. - 1007-1014.
9. Saito S, Niemann H. In vitro and in vivo survival of bovine demi-embryos following simplified bisection and transfer of one or two halves per recipient / S. Saito, H. Niemann // Journal of Reproduction Development, 1993. - Vol. - 39. - P. 251-258.
10. Hashiyada, Y. The contribution of efficient production of monozygotic twins to beef cattle breeding / Y. Hashiyada // Journal of reproduction and development, 2017. - Vol. 63, №6. - P. 527-538.
11. Silva, J.C.E. Luteotrophic effect, growth and survival of whole versus half embryos and, their relationship with plasma progesterone concentrations of recipient dairy heifers / J.C.E. Silva, P. Diniz, L.L. de Coste // Animal reproduction science, 2008. - Vol. 104, № 1. - P. 18-27.
12. Ozil, J.P. Production of identical twin by bisection of blastocysts in the cow / J.P. Ozil // Journal of Reproduction and fertility, 1983. - Vol. 69, - P. 463-648.
13. Schwiderski, H. Production of identical - twins by microsurgical bisection of day 8 and 10 cattle embryos / H. Schwiderski, K. Roschlau, D. Oesterreich, et all. // Archiv fur tierzucht archives of animal breeding, 1985. - Vol. 28, № 6. - P. 485-490.
14. Warfield, S.J. Transfer of bovine demi-embryos with and without the zone pellucid / S.J. Warfield, G. E. Seidel, Jr. and R. P. Elsdon // Journal of Reproduction science, 1987. - Vol. 65, - P. 756-761.
15. Skrzyszowska, M. Cell loss in bisected mouse, sheep and cow embryos / M. Skrzyszowska, Z. Smorag // Theriogenology, 1989. - Vol. - 32. - P. 115-122.
16. Skrzyszowska M, Smorag Z, Katska L. Demi-embryo production from hatching of zona-drilled bovine and rabbit blastocysts / M. Skrzyszowska, Z. Smorag, L. Katska // Theriogenology, 1997. - Vol. - 48. - P. 551-557.
17. Ptashinskaya, M. Kраткое rukovodstvo po reprodukcii zhivotnyh / M. Ptashinskaya // Intervet International BV. - 2009. - 176 s.