DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-3-13
УДК 636.082.4

Проблемные вопросы результативности технологии трансплантации эмбрионов при применении у крупного рогатого скота

Скачкова О.А.
Skachkova O.A.

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

Бригида А.В., заместитель директора по развитию и инновациям, ведущий научный сотрудник, brigida_86@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, эмбрионы, пересадка эмбрионов, приживляемость эмбрионов, эмбрио-опродуктивность.

Резюме. Актуальность освещаемой в обзоре тематики связана с важной ролью технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в развитии и интенсификации животноводства Российской Федерации. Многие проблемы технологического характера до сих пор остаются нерешенными и негативно влияют на результативность данной репродуктивной биотехнологии, что до сих пор не привело к повышению достигнутого порога эффективности по показателям количества эмбрионов, получаемых от коров-доноров (6,4 шт. из расчета на одного донора за одну сессию стимуляции полиовуляции), и приживляемости эмбрионов после трансплантации телкам-реципиентам (на уровне 40–50%). Целью данного обзора является обобщение биотехнологических проблем, снижающих результативность технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, в связи с тем, что они изучаются мировым научным сообществом фрагментарно, вне контекста всего технологического процесса. В статье рассматриваются мировые тенденции научных исследований, направленные на изучение эффективности методов и оборудования в составе биотехнологии, выделяются проблемные вопросы с недостаточной изученностью, такие как, например, усовершенствование протоколов стимуляции полиовуляции яичников у коров-доноров фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ) с целью устранения широкого диапазона

Problematic issues in the effectiveness of embryo transfer technology in cattle

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

FSBI Center of experimental embryology and reproductive biotechnologies, 127422, Moscow, Russian Federation; e-mail: info-ceerb@mail.ru

Key words: cattle, embryos, embryo transfer, embryo survival rate, embryo productivity

Abstract. The relevance of the topics covered in the review is related to the important role of embryo transfer technology in the development and intensification of animal husbandry in the Russian Federation. Many technological problems still remain unresolved and negatively affect the effectiveness of this reproductive biotechnology, what so far has not led to an increase of the efficiency threshold in terms of the number of embryos obtained from donor cows (6.4 embryos per donor for one session of induction of polyovulation), and embryo survival rate after their transfer to heifers-recipients (40-50%). The purpose of this review is to summarize biotechnological problems that reduce the effectiveness of transplantation technology for cattle embryos, due to the fact that they are studied by the world scientific community partially, outside the context of the entire technological process. The article discusses global trends in scientific research aimed at studying the effectiveness of methods and equipment used for the embryo transfer in cattle, emphasizing problematic issues with insufficient knowledge, such as, for example, improvement of protocols for induction of polyovulation in donor cows with follicle stimulating hormone (FSH) to eliminate the wide variability of the cow's ovaries response (from 0 to 50 yellow bodies per ovary) to the treatment with exogenous gonadotropins. It was revealed the lack of knowledge of the effectiveness of methods and equipment used to extract embryos from the reproductive organs of donor cows, which were developed more than thirty years ago and have remained unchanged at the moment, while losses of embryos for technical reasons remain high, reaching to 30 % and more. In the review the question of the feasibility of increasing attention from scientists to poorly studied problems that reduce the effectiveness of embryos transfer technology in cattle is argued. The information obtained can be used to justify new approaches to the comprehensive improvement of this biotechnology.

вариативности ответной реакции яичников на обработку животного экзогенными гонадотропинами, составляющего от 0 до 50 желтых тел одну корову-донора. Выявлена недостаточность изученности вопросов эффективности методов и оборудования, применяемых для извлечения эмбрионов из репродуктивных органов коров-доноров, которые были разработаны более тридцати лет назад и остались на текущий момент неизменными, в то время как потери эмбрионов по причинам технического характера остаются высокими, составляя 30% и более. Аргументирован вопрос целесообразности усиления внимания со стороны ученых к малоизученным проблемам, снижающим результативность технологии трансплантации эмбрионов

Для цитирования / For citation

Скачкова, О.А. Проблемные вопросы результативности технологии трансплантации эмбрионов при применении у крупного рогатого скота / О.А. Скачкова, А.В. Бригида, С.Н. Ковальчук // Ветеринария и кормление. - 2020. - № - С.46-49.

Skachkova, O.A. Problematic issues in the effectiveness of embryo transfer technology in cattle / O.A. Skachkova, A.V. Brigida, S.N. Kovalchuk // Veterinaria i kormlenie. - 2020. - № - P. 46-49.

крупного рогатого скота. Полученные сведения могут найти применение при обосновании новых подходов к комплексному усовершенствованию данной биотехнологии.

Необходимость в применении технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота непрерывно возрастает в мировом масштабе, о чём свидетельствуют данные Международного общества по трансплантации эмбрионов (International Embryo Transfer Society, IETS), полученные из 43 стран (Россия, США, Канада, Бразилия, Франция, Италия и др.), на долю которых в мире приходится примерно 46,0% поголовья скота. В 2017 году было произведено 1487343 шт. коммерческих эмбрионов данного вида сельскохозяйственных животных, что превышает на 130749 шт. количество эмбрионов, полученное в сумме за десять предыдущих лет (1356594 шт., 2007 – 2016 гг.). В общем, по всему миру в период с 1998 г. по 2017 г. было получено 16 037 300 эмбрионов крупного рогатого скота. [35].

Роль данной технологии в XXI веке особенно заметна на фоне тенденций роста численности мирового населения, сопровождаемого ростом возрастающих потребностей продуктового рынка, где мясо-молочная продукция, получаемая от крупного рогатого скота, пользуется высоким спросом повседневно (по прогнозам ООН, в 2050 году население планеты вырастет до 9,7 млрд человек, а к концу столетия достигнет примерно 11 млрд человек, для сравнения: в 2019 г. – 7,7 млрд человек) [2].

Научные исследования и многолетние усовершенствования привели к значительному улучшению рассматриваемой технологии, реализуемой в виде технологических этапов, представляющих собой части единого процесса: отбор коров-доноров и коров-реципиентов, осуществление стимуляции полиовуляции у коров-доноров и их осеменение, извлечение эмбрионов из репродуктивных органов коровы-донора, пересадка полученных эмбрионов телкам-реципиентам, криоконсервация эмбрионов – по мере необходимости [31]. Однако, не смотря на достигнутые успехи при применении технологии трансплантации эмбрионов, на сегодняшний день недостаточно изученными остаются многие вопросы технологического характера, что снижает итоговую результативность данной биотехнологии.

Так, при проведении технологического этапа по осуществлению стимуляции полиовуляции у коровы-донора, остается значительным диапазон ответной реакции яичников на обработку животного экзогенными гонадотропинами, составляя на одну корову-донора от 0 до 50 желтых тел на яичниках (число овуляций). При этом, низкий уровень полученного полиовуляторного ответа яичников с числом овуляций 1–3 (на одну корову-донора) фиксируют у 20–30 % коров-доноров [9], а еще у одной трети доноров отсутствует реакционный ответ на введенные гонадотропины (число овуляций – 0, на одну корову-донора) [37]. Таким образом, в среднем, от 60 % коров-доноров, у которых была проведена трудоемкая работа по стимуляции полиовуляции, не имеется возможности получить эмбрионы. Причем, данный результат ответной реакции яичников на введенные гонадотропины становится очевидным лишь по факту окончания мероприятия, связанного с овариальной стимуляцией, когда понесены расходы на дорогостоящие гормональные препараты, на сперматозоиды, на оборудование, на время и трудозатраты. Общепринятым выходом из данной ситуации в течение многих десятков лет является использование исходного поголовья коров в качестве доноров, превышающее планируемое число доноров в 2–3 раза [5], что уже на начальном технологическом этапе сопряжено с существенными экономическими затратами, в том числе, на специализированное содержание группы коров-доноров эмбрионов.

Для решения изложенных проблем в мировом научном сообществе большое внимание уделяется изучению эффек-

тивности различных протоколов гормональной стимуляции полиовуляции у коров-доноров, способствующих повышению ответной реакции яичников на обработку животного экзогенными гонадотропинами. Например, исследуется эффективность многократной и однократной обработки животного фолликулостимулирующим гормоном [14, 20, 25, 26, 32]. В отдельных случаях это привело к возможности получать от одной коровы-донора за одну сессию стимуляции полиовуляции до 50 эмбрионов, пригодных к пересадке [9], в то время как международная практика показывает, что средний выход таких эмбрионов составляет 6,4 шт. из расчета на одного донора [12]. Вместе с тем, полностью устранить вариативность ответной реакции яичников на обработку животного фолликулостимулирующим гормоном до сих пор не удается. В связи с этим требуются все новые технологии, позволяющие повысить эффективность стимуляции полиовуляции яичников у коров-доноров эмбрионов.

С научно-практической точки зрения актуальным является изучение маркеров исхода стимуляции полиовуляции, применение которых на начальном этапе биотехнологии могло бы повысить её эффективность за счет более тщательного отбора коров-доноров эмбрионов, способных к положительной ответной реакции на экзогенные гонадотропины. Разработки прогностических критериев полиовуляторного ответа яичников проводятся в самых различных направлениях. Например, исследуется показатель концентрации антимюллера гормона (АМГ) в крови коровы-донора, который влияет на результат роста и количества фолликулярных клеток, и, предположительно, может быть использован для прогнозирования ответной реакции яичников на экзогенные гонадотропины [8]. Предприняты попытки измерений концентраций ингибина, еще одного из регуляторов секреции фолликулостимулирующего гормона у коров-доноров, и установление взаимосвязи его активности с индукцией роста и овуляции множества фолликулов [24]. Однако на сегодняшний день возможность использовать данные показатели в качестве предикторов ответной реакции яичников на экзогенные гонадотропины отсутствует из-за недостаточной изученности роли антимюллера гормона и ингибина в процессе фолликулогенеза самок крупного рогатого скота.

Новым направлением, представляющим особый интерес в вопросе рассматриваемого прогнозирования, является проведение геномных исследований с целью разработок молекулярно-генетических маркеров - предикторов ответной реакции на стимуляцию полиовуляцией. Например, исследуются гены рецептора фолликулостимулирующего гормона и лютеинизирующего гормона, в которых обнаруженные полиморфизмы ассоциируются с такими характеристиками полиовуляции, как рост и созревание множества фолликулов, бесплодные и неоплодотворенные ооциты и др. [15, 38]. Разработки указанных маркеров также находятся на стадии экспериментальных исследований, и к текущему моменту не привели к созданию метода прогнозирования с точными интервалами предикторных значений показателей овариального резерва у коров-доноров эмбрионов. Кроме того, геномные методы исследований ведутся с использованием методов полимеразной цепной реакции (ПЦР), требующих специфического инструментария, и не относятся на сегодняшний день к методам массовых лабораторных анализов, используемых в повсеместной практике животноводческих хозяйств. Кроме того, в стадии разработок находятся предикторные критерии для прогнозирования полиовуляторного ответа при применении такого многообещающего инструмента как трансректальная ультрасонография с цветным доплеровским сканированием [11, 27].

Следующим технологическим этапом, в свою очередь определяющим эффективность технологии трансплантации эмбрионов является нехирургическое извлечение эмб-

рионов из репродуктивных органов донора, осуществляемое после стимуляции полиовуляции яичников у коров-доноров и осеменения. Показатель количества извлеченных эмбрионов в сравнении с показателем количества желтых тел, сформированных на момент извлечения эмбрионов, являясь одним из главных критериев результативности технологии, одновременно указывает на число эмбрионов, утраченных в процессе извлечения. Стоит отметить, что к настоящему времени потери эмбрионов при их извлечении стабильно сохраняются на высоком уровне (30% и более) [13, 18], причиняя значительный ущерб экономике хозяйств, специализирующихся на получении эмбрионов крупного рогатого скота. Систематизация и анализ сведений, касающихся нехирургического извлечения эмбрионов у коров-доноров, проведенные в ходе настоящего исследования, показали, что во всем мире применяемым оборудованием для извлечения эмбрионов из репродуктивных органов коровы-донора являются двух- и трехканальный катетеры Фолея с надувным баллоном [6, 19], а также общепринятые способы извлечения эмбрионов: гравитационный (самотека) [33], шприцевания (порционный) [35], комбинированный (смешанный) [17, 28, 31]. При этом выявлено, что за последние 30 лет данные методы и оборудование, используемые для извлечения эмбрионов у коров-доноров, практически не претерпели изменений, а научных исследований, посвященных методологическим и инструментальным технологическим недостаткам рассматриваемой процедуры извлечения эмбрионов крупного рогатого скота, очень мало.

Технологический этап, в ходе которого телкам-реципиентам осуществляют пересадку эмбрионов, полученных путем индукции полиовуляции яичников у коров-доноров, также не лишен недостатков и характеризуется низким уровнем приживляемости трансплантированных эмбрионов, составляющим около 50% [16] и изредка достигающим более 60% [23]. Несмотря на то, что данный вопрос довольно долго и активно изучается по всему миру [10, 30], следует признать, что проблема до сих пор остается актуальной и требует своего решения. При этом, большинство исследований посвящено изучению биологических характеристик у пересаживаемых эмбрионов и коров-доноров, от которых были получены эти эмбрионы, а также у коров-реципиентов, и взаимосвязи тех или иных показателей с процессом приживляемости трансплантированных эмбрионов. Так, например, показано, что при степени развития желтого тела на яичнике у реципиента, составляющего 4 мм и менее приживляемость не превышала 23,1 %, а при 5–8 мм и 9–10 мм составляла 42,6–48,4 % [1]. Снижение приживляемости на 30–32% отмечено после пересадки эмбрионов, оцененных как удовлетворительные при морфологической оценке по международному стандарту оценки эмбрионов крупного рогатого скота (ГОСТ-28424-2014), в сравнении с эмбрионами отличного и хорошего качества [4]. Показано, что несоответствие синхронности полового цикла у донора и реципиента при пересадке свежеполученных эмбрионов с разницей в ± 30 часов снижает уровень приживляемости трансплантируемого эмбриона с 50% до 36% [29]. Выявлено, что приживляемость эмбрионов, полученных от телок-доноров, является более низкой, чем приживляемость эмбрионов, полученных от коров-доноров (на 31-й день 30,7 % против 36,0 %, на 45-й день – 23,1 % против 28,3 %) [3], аналогично тому, более низкая приживляемость эмбрионов наблюдается у телок-реципиентов (в среднем, 48,0 %) в сравнении с коровами-реципиентами (52,6 %) [4]. Также отрицательно влияют на приживляемость трансплантированных эмбрионов генетическая несовместимость эмбриона с реципиентом, воспалительные процессы в организме реципиента [21], буйный темперамент у реципиента [22], недостаточность эмбрионального сигнала о наступившей стельности у реципиента после

пересадки ему зародыша [7] и другие. В немногих научных работах обращено внимание на низкую приживляемость (25–37,5%) при аппликации эмбриона в нижнюю или среднюю треть рога матки в сравнении с переносом зародыша в верхнюю треть рога матки, при которой результат приживляемости может составлять 50% и более [3, 4]. При этом, недостаточно исследован вопрос технического характера, в том числе степень влияния различных методов и модификаций оборудования, предназначенных для пересадки эмбрионов крупного рогатого скота, на уровень приживляемости эмбрионов у реципиентов. Очевидно, что многофакторная зависимость процесса приживляемости трансплантированных эмбрионов делает затруднительным повышение уровня приживляемости с использованием имеющихся технологических возможностей.

Таким образом, анализ основных показателей результативности, получаемых на последовательно проводимых технологических этапах рассматриваемой репродуктивной биотехнологии, показывает, что практически на каждом из них есть технологические проблемы, снижающие результативность самого этапа, и, как следствие, итоговую результативность технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого, конечной целью которой является получение максимально возможного количества эмбрионов и уровня приживляемости пересаженных эмбрионов при меньших затратах труда и материальных средств.

Литература

1. Гавриков, А.М. Биотехнология воспроизведения мясного скота методом трансплантации эмбрионов / А.М. Гавриков - 2012. - 125 с.
2. Интернет ресурс: - <https://news.un.org/ru/story/2019/04/1352171>.
3. Косовский, Г.Ю. Сравнительная оценка результатов трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в зависимости от места их локализации в роге матки реципиента / Г.Ю. Косовский, Д.В. Попов, А.В. Бригида. // Ветеринария Кубани, 2016. - №3. - С. 9-11.
4. Лебедев, В.И. Трансплантация эмбрионов в молочном скотоводстве / В.И. Лебедев - 2005. - 100 с.
5. Лихоман, А.В. Результаты внедрения трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / А.В. Лихоман, В.В. Усенко, А.О. Пустовая // Научный журнал КубГАУ, 2016. - №121 (07). - С. 1-35.
6. Мадисон, В.В. Трансплантация эмбрионов в практике разведения молочного скота / В.В. Мадисон, В.Л. Мадисон. - М.: Агропромиздат, 1988. - 128 с.
7. Пташинская, М. Краткое руководство по репродукции животных / М. Пташинская // Intervet International BV. - 2009. - 176 с.
8. Baruselli, P.S. Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle / P.S. Baruselli, E.O.S. Batista, L.M. Vieira, A.H. Souza // Anim. Reprod., 2015. - Vol. 12, № 3. - P. 487-497.
9. Bekele, T. Bovine Embryo Transfer and Its Application: Arview / T. Bekele, E. Mekuriaw, B. Walelegn // Journal of Health, Medicine and Nursing, 2016. - Vol. 26. - P. 48-60.
10. Bok, N-H. Respiration Rates of Individual Bovine In Vivo-Produced Embryos Measured with a Novel, Scanning Electrochemical Microscopy / N.-H. Bok, S. Cho // Korean Journal of Embryo Transfer, 2014. - Vol. 29, №1. - P. 91-99.
11. Bollwein, H. Ultrasonographic Doppler Use for Female Reproduction Management / H. Bollwein, M. Heppelmann, J. Luetgenau // Veterinary clinics of north america-food animal practice, 2016. - Vol. 32, № 1. - P. 149.
12. Commercial Embryo Transfer Activity in Europe 2017. Association of embryo technology in Europe, <http://www.aete.eu/images/PDF/statistics2017>
13. Cruz, F. B. Uterine re-flushing as a strategy to improve embryo recovery rate in dairy and beef cattle / F. B. Cruz, I. J. Ortigari, A. D. Vieira // Acta scientiae veterinariae, 2008. - Vol. 26. - P. 249-254.
14. Dell'Eva, G. Superovulation protocols for dairy cows bred with Sexed ULTRA (TM) sex-sorted semen / G. Dell'Eva; D. Bolognini; E. Iacono // Reproduction in domestic animals, 2019. - Vol. 26. - P. 756-761.
15. Fauser, B. Predictors of ovarian response: Progress towards individualized treatment in ovulation induction and ovarian stimulation / B. Fauser, K. Diedrich, P. Devroey // Human Reproduction Update, 2008. - Vol. 14, № 1 - P. 1-14. doi: 10.1093/humupd/dmm034
16. Galli, C. Achievements and unmet promises of assisted reproduction technologies in large animals: a personal perspective / C. Galli // Animal Reproduction, 2017. - Vol. 14, № 3 - P. 614-621.
17. Hasler, J.F. Factors influencing the success of embryo transfer in cattle/ J.F. Hasler // Proceedings of the 23rd World Buiatrics Congress, Qu?bec, Canada, 2004.
18. Hubbert, K.G. Bovine Embryo Transfer-Present and Future / K.G. Hubbert, S.M. Hopkins // Iowa State Veterinarian, 1984. - Vol. 46 № 2. - P. 113-117
19. Hussein, A. M. Effect of different doses of FSH on superovulation, production and quality of embryo in North Omani Cattle breed / A. M. Hussein; Y. O. Al-Shakaili; A. N. Al-Ismaïly; et all. // Indian journal of animal research, 2017. - Vol. 51 № 1. - P. 8-14.
20. Jimenez-Krassel, F. Development of the "waveless" bovine model

- / F. Jimenez-Krassel, J. L. H. Ireland, C. Kronemeyer, et al. // *Animal reproduction science*, 2018. - Vol. 195. - P. 80-88.
21. Kasimanickam, R. K. Flunixin meglumine improves pregnancy rate in embryo recipient beef cows with an excitable temperament / R. K. Kasimanickam, J. B. Hall, C. T. Estill, et al. // *Theriogenology*, 2018. - Vol. 107. - P. 70-77.
22. Kasimanickam, R. Influence of Temperament Score and Handling Facility on Stress, Reproductive Hormone Concentrations, and Fixed Time AI Pregnancy Rates in Beef Heifers / R. Kasimanickam, S. Schroeder, M. Assay, V. Kasimanickam, D.A. Moore, J.M. Gay, W.D. Whittier // *Reproduction in Domestic Animals*, 2014. - Vol. 49, № 5. - <https://doi.org/10.1111/rda.12368>
23. Kizil, S.H. Transfer of in vivo Embryos Frozen by Direct Transfer Method with Ethylene Glycol in Cattle / S.H. Kizil, N. Akyol, T. Karasahin, et al. // *Kafkaz universitesi veteriner facutesidergisi*, 2011. - Vol. 17. № 5. - P. 721-724.
24. Leyan, Y. Immunization against inhibin improves in vivo and in vitro embryo production / Y. Leyan, Li. Hui, Sh. Zhendan // *Animal Reproduction Science*. 2015. - Vol. 163. - P. 1-9.
25. Mapletoft, R. J. In vitro and in vivo embryo production in cattle superstimulated with FSH for 7 days / R. J. Mapletoft, A. G. Guerra, F. C. F. Dias, et al. // *Animal reproduction*, 2015. - Vol. 12, № 3. - P. 383-388.
26. Ochea, M. The effect of epidural administration of fsh in bovine superovulation protocol / M. Ochea, M. Pascal, A. Sonea, et al. // *Scientific papers-series d-animal science*, 2015. - Vol. 58. - P. 217-220.
27. Pugliesi, G. Use of Doppler ultrasonography in embryo transfer programs: feasibility and field results / G. Pugliesi, G. D. Melo, G. A. Ataide, et al. // *Animal Reproduction*, 2018. - Vol. 15, № 3. - P. 239-246. DOI: 10.21451/1984-3143-AR2018-0059
28. Richard, C. Transcervical collection of bovine embryos up to Day 21: An 8-year overview / C. Richard, I. Hue, V. Gelin, et al. // *Theriogenology*, 2015. - Vol. 83 № 7. - P. 1101 - 1109.
29. Rodrigues, M. C. C. Effect of oestrous synchrony between embryo donors and recipients, embryo quality and state on the pregnancy rate in beef cattle/ M. C. C. Rodrigues, A. L. M. Bonotto, D. A. V. Acosta, et al. // *Reproduction in domestic animals*, 2018. - Vol. 53, №2. - P. - 152-156.
30. Roper, D. A. Factors in cattle affecting embryo transfer pregnancies in recipient animals / D. A. Roper, F. N. Schrick, J. L. Edwards, et al. // *Animal reproduction science*, 2018. - Vol. 195. - P. 79-83
31. Seidel, G.E. Training manual for embryo transfer in cattle / G.E. Seidel, S.M. Seidel // *FAO Animal production and health*, 2005. - p. 77.
32. Silva, F. The effects of injectable trace mineral supplements in donor cows at the initiation of a superovulation protocol in embryo outcomes and pregnancy rates in recipient females / F. da Silva, N. Negrin-Pereira, B. Funnell, et al. // *Journal of animal science*, 2018. - Vol. 96. - P. 346-346.
33. Selk, G. Embryo Transfer in Cattle / G. Selk // *Oklahoma Cooperative Extension Service*, 2002. <http://osuextra.okstate.edu/>
34. Umut, C. Effect of the interval from follicle aspiration to initiation of lengthened FSH treatment on follicular superstimulatory and superovulatory responses and embryo production in lactating Simmental cows / C. Umut, O. Ferit, M. K???kaslanb, et al // *Theriogenology*, 2019. - Vol. 128. - P. 218-224.
35. Viana, J. 2017 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. / J. Viana // *Embryo Technology Newsletter*, 2018. - Vol. 36. - P. 8-25.
36. Vieira, L. M. Donor category and seasonal climate associated with embryo production and survival in multiple ovulation and embryo transfer programs in Holstein cattle / L. M. Vieira, C. A. Rodrigues, M. F. Mendanha, et al. // *Theriogenology*, 2014. - Vol. 82, № 2. - P. 204-212.
37. Wohres-Viana, S. Differential expression of LHCGR and its isoforms is associated to the variability in superovulation responses of Gir cattle / S. Wohres-Viana, E. K. N. Arashiro, T. P. Minare // *Theriogenology*, 2019. - Vol. 26. - P. 68-74.
38. Yang, W. C. Polymorphisms of the bovine luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor (LHCGR) gene and its association with superovulation traits / W. C. Yang, K. Q. Tang, S. J. Li, etc. // *Molecular Biology Reports*. 2012. - Vol. 39. № 3. - P. 2481-2487.
11. Bollwein, H. Ultrasonographic Doppler Use for Female Reproduction Management / H. Bollwein, M. Heppelmann, J. Luetgenau // *Veterinary clinics of north america-food animal practice*, 2016. - Vol. 32, № 1. - P. 149.
12. Commercial Embryo Transfer Activity in Europe 2017. Association of embryo technology in Europe, <http://www.aete.eu/images/PDF/statistics2017>
13. Cruz, F. B. Uterine re-flushing as a strategy to improve embryo recovery rate in dairy and beef cattle / F. B. Cruz, I. J. Ortigari, A. D. Vieira // *Acta scientiae veterinariae*, 2008. - Vol. 26. - P. 249-254.
14. Dell'Eva, G. Superovulation protocols for dairy cows bred with Sexed ULTRA (TM) sex-sorted semen / G. Dell'Eva; D. Bolognini; E. Iacono // *Reproduction in domestic animals*, 2019. - Vol. 26. - P. 756-761.
15. Fauser, B. Predictors of ovarian response: Progress towards individualized treatment in ovulation induction and ovarian stimulation / B. Fauser, K. Diedrich, P. Devroey // *Human Reproduction Update*, 2008. - Vol. 14. № 1 - P. 1-14. doi: 10.1093/humupd/dmm034
16. Galli, C. Achievements and unmet promises of assisted reproduction technologies in large animals: a personal perspective / C. Galli // *Animal Reproduction*, 2017. - Vol. 14. № 3 - P. 614-621.
17. Hasler, J.F. Factors influencing the success of embryo transfer in cattle/ J.F. Hasler // *Proceedings of the 23e World Buiatrics Congress*, Quebec, Canada, 2004.
18. Hubbert, K.G. Bovine Embryo Transfer-Present and Future / K.G. Hubbert, S.M. Hopkins // *Iowa State Veterinarian*, 1984. - Vol. 46 № 2. - P. 113-117
19. Hussein, A. M. Effect of different doses of FSH on superovulation, production and quality of embryo in North Omani Cattle breed / A. M. Hussein; Y. O. Al-Shakili; A. N. Al-Ismaili; et al. // *Indian journal of animal research*, 2017. - Vol. 51 № 1. - P. 8-14.
20. Jimenez-Krassel, F. Development of the "waveless" bovine model / F. Jimenez-Krassel, J. L. H. Ireland, C. Kronemeyer, et al. // *Animal reproduction science*, 2018. - Vol. 195. - P. 80-88.
21. Kasimanickam, R. K. Flunixin meglumine improves pregnancy rate in embryo recipient beef cows with an excitable temperament / R. K. Kasimanickam, J. B. Hall, C. T. Estill, et al. // *Theriogenology*, 2018. - Vol. 107. - P. 70-77.
22. Kasimanickam, R. Influence of Temperament Score and Handling Facility on Stress, Reproductive Hormone Concentrations, and Fixed Time AI Pregnancy Rates in Beef Heifers / R. Kasimanickam, S. Schroeder, M. Assay, V. Kasimanickam, D.A. Moore, J.M. Gay, W.D. Whittier // *Reproduction in Domestic Animals*, 2014. - Vol. 49, № 5. - <https://doi.org/10.1111/rda.12368>
23. Kizil, S.H. Transfer of in vivo Embryos Frozen by Direct Transfer Method with Ethylene Glycol in Cattle / S.H. Kizil, N. Akyol, T. Karasahin, et al. // *Kafkaz universitesi veteriner facutesidergisi*, 2011. - Vol. 17. № 5. - P. 721-724.
24. Leyan, Y. Immunization against inhibin improves in vivo and in vitro embryo production / Y. Leyan, Li. Hui, Sh. Zhendan // *Animal Reproduction Science*. 2015. - Vol. 163. - P. 1-9.
25. Mapletoft, R. J. In vitro and in vivo embryo production in cattle superstimulated with FSH for 7 days / R. J. Mapletoft, A. G. Guerra, F. C. F. Dias, et al. // *Animal reproduction*, 2015. - Vol. 12, № 3. - P. 383-388.
26. Ochea, M. The effect of epidural administration of fsh in bovine superovulation protocol / M. Ochea, M. Pascal, A. Sonea, et al. // *Scientific papers-series d-animal science*, 2015. - Vol. 58. - P. 217-220.
27. Pugliesi, G. Use of Doppler ultrasonography in embryo transfer programs: feasibility and field results / G. Pugliesi, G. D. Melo, G. A. Ataide, et al. // *Animal Reproduction*, 2018. - Vol. 15, № 3. - P. 239-246. DOI: 10.21451/1984-3143-AR2018-0059
28. Richard, C. Transcervical collection of bovine embryos up to Day 21: An 8-year overview / C. Richard, I. Hue, V. Gelin, et al. // *Theriogenology*, 2015. - Vol. 83 № 7. - P. 1101 - 1109.
29. Rodrigues, M. C. C. Effect of oestrous synchrony between embryo donors and recipients, embryo quality and state on the pregnancy rate in beef cattle/ M. C. C. Rodrigues, A. L. M. Bonotto, D. A. V. Acosta, et al. // *Reproduction in domestic animals*, 2018. - Vol. 53, №2. - P. - 152-156.
30. Roper, D. A. Factors in cattle affecting embryo transfer pregnancies in recipient animals / D. A. Roper, F. N. Schrick, J. L. Edwards, et al. // *Animal reproduction science*, 2018. - Vol. 195. - P. 79-83
31. Seidel, G.E. Training manual for embryo transfer in cattle / G.E. Seidel, S.M. Seidel // *FAO Animal production and health*, 2005. - p. 77.
32. Silva, F. The effects of injectable trace mineral supplements in donor cows at the initiation of a superovulation protocol in embryo outcomes and pregnancy rates in recipient females / F. da Silva, N. Negrin-Pereira, B. Funnell, et al. // *Journal of animal science*, 2018. - Vol. 96. - P. 346-346.
33. Selk, G. Embryo Transfer in Cattle / G. Selk // *Oklahoma Cooperative Extension Service*, 2002. <http://osuextra.okstate.edu/>
34. Umut, C. Effect of the interval from follicle aspiration to initiation of lengthened FSH treatment on follicular superstimulatory and superovulatory responses and embryo production in lactating Simmental cows / C. Umut, O. Ferit, M. K???kaslanb, et al // *Theriogenology*, 2019. - Vol. 128. - P. 218-224.
35. Viana, J. 2017 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. / J. Viana // *Embryo Technology Newsletter*, 2018. - Vol. 36. - P. 8-25.
36. Vieira, L. M. Donor category and seasonal climate associated with embryo production and survival in multiple ovulation and embryo transfer programs in Holstein cattle / L. M. Vieira, C. A. Rodrigues, M. F. Mendanha, et al. // *Theriogenology*, 2014. - Vol. 82, № 2. - P. 204-212.
37. Wohres-Viana, S. Differential expression of LHCGR and its isoforms is associated to the variability in superovulation responses of Gir cattle / S. Wohres-Viana, E. K. N. Arashiro, T. P. Minare // *Theriogenology*, 2019. - Vol. 26. - P. 68-74.
38. Yang, W. C. Polymorphisms of the bovine luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor (LHCGR) gene and its association with superovulation traits / W. C. Yang, K. Q. Tang, S. J. Li, etc. // *Molecular Biology Reports*. 2012. - Vol. 39. № 3. - P. 2481-2487.

References

- Gavrikov, A.M. Biotekhnologiya vosproizvedeniya myasnogo skota metodom transplantatsii embrionov / A.M. Gavrikov - 2012. - 125 s.
- Internet resurs: - <https://news.un.org/ru/story/2019/04/1352171>
- Kosovskij, G.YU. Sravnitel'naya ocenka rezul'tatov transplantatsii embrionov krupnogo rogatogo skota v zavisimosti ot mesta ih lokalizatsii v roge matki recipienta / G.YU. Kosovskij, D.V. Popov, A.V. Brigida. // *Veterinariya Kubani*, 2016. - №3. - S. 9-11.
- Lebedev, V.I. Transplantatsiya embrionov v molochnom skotovodstve / V.I. Lebedev - 2005. - 100 s.
- Lihoman, A.V. Rezul'taty vnedreniya transplantatsii embrionov krupnogo rogatogo skota / A.V. Lihoman, V.V. Usenko, A.O. Pustovaya // *Nauchnyj zhurnal KubGAU*, 2016. - №121 (07), - S. 1-35.
- Madison, V.V. Transplantatsiya embrionov v praktike razvedeniya molochnogo skota / V.V. Madison, V.L. Madison. - M.: Agropromizdat, 1988. - 128 s.
- Ptashinskaya, M. Kratkoe rukovodstvo po reprodukcii zhivotnyh / M. Ptashinskaya // *Intervet International BV*. - 2009. - 176 s.
- Baruselli, P.S. Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle / P.S. Baruselli, E.O.S. Batista, L.M. Vieira, A.H. Souza // *Anim. Reprod.*, 2015. - Vol. 12, № 3. - P. 487-497.
- Bekele, T. Bovine Embryo Transfer and Its Application: Arwiew / T. Bekele, E. Mekuriaw, B. Walegn // *Journal of Health, Medicine and Nursing*, 2016. - Vol. 26. - P. 48-60.
- Bok, N-H. Respiration Rates of Individual Bovine In Vivo-Produced Embryos Measured with a Novel, Scanning Electrochemical Microscopy / N.-H. Bok, S. Cho // *Korean Journal of Embryo Transfer*, 2014. - Vol. 29, №1. - P. 91-99.