

ларуси по животноводству. – Жодино, 2019. – Т. 54, ч. 1 : Генетика, разведение, селекция, биотехнология размножения и воспроизводство. Технология кормов и кормления, продуктивность. – С. 7-12.

7. Использование интравагинальных гормональных имплантов пролонгированного действия в технологии искусственного осеменения свиней / Д. М. Богданович [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2013. – Т. 48, ч. 1. – С. 31-36. – Авт. также : Будевич А.И., Сахончик П.Е., Зубова Т.В., Шейко Е.И., Линкевич Е.И., Бровко Т.Н., Кизик Т.Г., Турко М.П.

8. Гливанская, О. И. Зависимость качества спермы от концентрации биостимулятора в разбавителе в технологии искусственного осеменения свиней / О. И. Гливанская, Д. М. Богданович // Таврический научный обозреватель. – 2016. - № 5(10), ч. 2. – С. 199-202.

9. Коваленко, В. Ф. Біялагічна актыўны рэчовыні захіснай діі в свинарстві / В. Ф. Коваленко, Г. М. Почерняева, В. Ф. Почерняева // Вісн. аграр. науки. – 1995. - № 10. – С. 65-70.

10. Kawecka, M. Wpływ stosowania preparatu caromix na wartose nasienia knurow stadnych / M. Kawecka, Ja. Owsiany, E. Jacuno // Zesz. nauk. Zootechn. / AR Szczecinie. – 1994. – № 30. – S. 97-102.

11. Влияние рекомбинантного лактоферрина человека на биологическую полноценность и санитарное качество спермы хряков / Д. М. Богданович [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2018. – Т. 53, ч. 1 : Генетика, разведение, селекция, биотехнология размножения и воспроизводство. Технология кормов и кормления, продуктивность. – С. 21-28. – Авт. также: Бровко Т.Н., Шевцов И.Н., Гливанская О.И., Гродникова Н.А.

12. Елисейкин, Д. В. Особенности резистентности и воспроизводительной функции хряков при воздействии лазерным облучением : автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук / Елисейкин Д.В. – Витебск, 2003. – 20 с.

13. Инструкция по искусственному осеменению свиней / Е. В. Раковец [и др.]. – Минск, 1998. – 38 с.

Поступила 26.02.2020 г.

УДК 636.2.082.4:591.564

Д.М. БОГДАНОВИЧ, С.Н. ПАЙТЕРОВ, С.А. САПСАЛЁВ,
Ю.К. КИРИКОВИЧ, В.В. ЖДАНОВИЧ, О.В. ПАЙТЕРОВА

ПРИМЕНЕНИЕ РАСТВОРОВ ВЫСОКОКОНЦЕНТРИРОВАННЫХ КРИОПРОТЕКТОРОВ ПРИ ВИТРИФИКАЦИИ ЭМБРИОНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ IN VITRO

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

В статье представлены данные изучения воздействия растворов высококонцентрированных криопротекторов на эмбрионы млекопитающих, полученных методом *in vitro*.

Установлено, что наибольшими протекторными свойствами обладает 30%-ный раствор этиленгликоля. При его использовании сохранность зародышей после их оттаивания находилась на максимально высоком уровне среди всех исследуемых криопротекто-

ров – 88,2 %, что на 5,8, 17,6 и 8,2 п.п. больше по сравнению с 30%-ным раствором глицерина, 20%-ным раствором диметилсульфоксида и 10%-ным раствором 1,2-пропандиола соответственно. При использовании 30%-ного раствора этиленгликоля установлен максимальный уровень дробления эмбриоматериала после его оттаивания и культивирования в инкубаторе – 80,0%, что на 1,4-5,0 п.п. выше среди всех исследуемых криофиллактиков.

Ключевые слова: криопротектор, крупный рогатый скот, лабораторные мыши, ооцит, эмбрион, эструс, яичник.

D.M. BOGDANOVICH, S.N. PAITSERAU, S.A. SAPSALEV, Y.K. KIRIKOVICH,
V.V. ZHDANOVICH, O.V. PAITSERAVA

APPLICATION OF SOLUTIONS OF HIGHLY CONCENTRATED CRYOPROTECTORS FOR VITRIFICATION OF MAMMALIAN EMBRYOS OBTAINED IN VITRO

*Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus
for Animal Breeding, Zhodino, Belarus*

The paper presents data of study of effects of highly concentrated cryoprotector solutions on mammalian embryos obtained *in vitro*.

The 30% solution of ethylene glycol was determined to have the greatest protective properties. When using this solution, the safety of embryos after thawing is at the highest level among all the cryoprotectors studied – 88.2%, which is 5.8, 17.6 and 8.2 percentage points over compared with 30% solution of glycerol, 20% solution of dimethylsulfoxide and 10% solution of 1,2-propanediol, respectively. When using the 30% solution of ethylene glycol, the maximum level of embryo material cleavage after thawing and cultivation in incubator is 80.0%, which is 1.4-5.0 pp higher among all the studied cryophilactics.

Keywords: cryoprotector, cattle, laboratory mice, oocyte, embryo, estrus, ovary.

Введение. На эффективность эмбриотрансплантации у крупного рогатого скота влияет ряд факторов [1]. В то же время применение технологии прижизненной аспирации ооцитов позволяет каждые две недели использования коровы-донора получать до 9-10 яйцеклеток от одной процедуры извлечения, дальнейшее культивирование которых в условиях *in vitro* приводит к получению 1-2 пригодных blastocysts. По причине недостаточного количества или качества предоставляемых телок-реципиентов необходимо проводить криоконсервацию эмбриоматериала с хранением в жидком азоте и оттаиванием при наличии пригодных реципиентов. До настоящего времени остаётся открытым вопрос о том, насколько устойчив эмбрион к переохлаждению и что приводит к потере его биополюценности. Причинами могут быть: летальные изменения в клетке, которые невозможно установить морфологически под микроскопом; условия получения эмбриоматериала; выбор используемого криопротектора и его концентрация; способ насыщения и удаления; режим охлаждения и многие другие [2].

В то же время полученные в условиях *in vitro* зародыши в случае витрификации обеспечивают более высокую приживляемость по срав-

нению с традиционной криоконсервацией. Витрификация позволяет сократить длительность цикла криоконсервирования и свести к минимуму изменения объема клеток на этапах замораживания и оттаивания. Традиционно при витрификации применяются этиленгликоль (ЭГ) [3, 4, 5, 6], глицерин, диметилсульфоксид (ДМСО) и 1,2-пропандиол [7, 8, 9, 10, 11, 12]. Способ сверхбыстрого охлаждения (со скоростью $\approx 15\ 000\ ^\circ\text{C}/\text{мин}$) при использовании высоких концентраций криопротекторов (обеспечивающих осмоляльность 1000-2000 мОсм/кг) и чрезвычайно малых объемов образцов (0,5-5,0 мкл) исключает образование кристаллов льда, что сводит к минимуму повреждение клеток.

В работе следует учитывать такие параметры, как концентрации криопротектора и непроникающей добавки, продолжительность экспозиции в среде замораживания, условия добавления и удаления криопротектора. Не менее важно иметь такие качества препаратов, как относительная безвредность и экономическая доступность [13]. Вместе с тем, для оптимизации различных этапов быстрого замораживания ранних эмбрионов млекопитающих необходимо учитывать, что эмбрионы разных стадий деления (дробления) обладают различной устойчивостью к отдельным этапам цикла криоконсервирования [4].

В соответствии с этим возникает необходимость в изучении воздействия растворов высококонцентрированных криопротекторов на эмбрионы млекопитающих, полученных методом *in vitro*.

Материал и методика исследований. Изучение воздействия растворов высококонцентрированных криопротекторов на эмбрионы млекопитающих, полученных методом *in vitro*, и криоконсервации проводились в лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района, КСУП «Племенной завод Красная Звезда» Клецкого района, СПК «Агрокомбинат Снов» Несвижского района Минской области, ГП «Племзавод Кореличи» Гродненской области, п/х «Литвиново» Кобринского района Брестской области.

Неотъемлемой частью изучения влияния различных криофилактиков на сохранность и жизнеспособность зародышей, полученных *in vitro*, является процесс их отбора у доноров. Животные асперировались один раз в две недели. Все манипуляции с яйцеклетками проводились в среде Нерес+KSOM, которая готовилась на фосфатном буфере. Для длительного культивирования использовали среду KSOM, необходимый уровень pH в которой обеспечивается с помощью бикарбоната натрия и наличия в воздушной среде 5% углекислого газа.

В первой серии экспериментов исследовали влияние различных концентраций этиленгликоля на сохранность и жизнеспособность 2-4-

клеточных эмбрионов мышей и коров при их низкотемпературном консервировании. Клетки после предварительной эквilibрации в 10%-ном растворе этиленгликоля в течение 5 минут переносили в среду для витрификации с содержанием 10-, 20- и 30%-ного раствора этиленгликоля + 0,7М сахарозы для каждой из групп. Затем исследовали влияние различных концентраций глицерина на сохранность и жизнеспособность 2-4-клеточных эмбрионов при их низкотемпературном консервировании. Зародыши после предварительной эквilibрации в 10%-ном растворе глицерина в течение 5 минут перенесли в среду для витрификации с содержанием 10-, 20- и 30%-ного раствора глицерина + 0,7М сахарозы для каждой из групп. Далее клетки после предварительной эквilibрации в 10%-ном растворе диметилсульфоксида (ДМСО) в течение 5 минут перенесли в среду для витрификации с содержанием 10-, 20- и 30%-ного раствора ДМСО + 0,7М сахарозы для каждой из групп.

На заключительном этапе изучали влияние различных концентраций 1,2-пропандиола на сохранность и жизнеспособность 2-4-клеточных эмбрионов при их низкотемпературном консервировании. Зародыши после предварительной эквilibрации в 10%-ном 1,2-пропандиоле в течение 5 минут перенесли в среду для витрификации с содержанием 5-, 10- и 15%-ного 1,2-пропандиола + 0,7М сахарозы для каждой из групп.

Эмбрионы подопытных групп выдерживали в среде для витрификации и затем заправляли в заранее подготовленные пластиковые соломинки диаметром 2 мм, содержащие 5 мкл среды витрификации, которые быстро погружали в жидкий азот. Во всех опытах соломинки оттаивали на водяной бане. Для удаления криопротектора эмбрионы, извлечённые из соломинок, переносили в раствор сахарозы с концентрацией 0,5 М, выдерживали в нём 10 мин и затем трижды отмывали физиологической средой при комнатной температуре. Сохранность де-консервированных зародышей оценивали по морфологическим признакам: целостности бластомеров и прозрачности их цитоплазмы. Жизнеспособность эмбрионов оценивали по их способности дробиться *in vitro* при культивировании в CO₂-инкубаторе.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Эффективность использования раствора этиленгликоля различных концентраций при витрификации эмбрионов мышей и крупного рогатого скота приведена в таблице 1. Представленные в таблице данные показывают, что применение в качестве криопротектора 30%-ного раствора этиленгликоля (ЭГ) совместно с 0,7М сахарозой позволяет в наибольшей степени (среди исследуемых разведений ЭГ) обеспечить сохранность эмбрионального материала после его оттаивания – 88,2 %, что на 21,5 п. п. выше по сравнению со II опытной группой (P<0,1). После культивирования

жизнеспособного материала максимальный уровень дробления клеток был отмечен в III опытной группе – 80,0 %, что на 13,3 (P<0,1) и 63,3 п. п. (P<0,01) выше по сравнению со II и I группами эмбрионов. Кроме этого установлено, что сохранность исследуемого заморожено-оттаянного биоматериала, а также уровень его дробления достоверно не различались между зародышами мышей и крупного рогатого скота.

Таблица 1 – Эффективность использования этиленгликоля при витрификации эмбрионов млекопитающих

Показатели	Группы эмбрионов		
	I	II	III
Заморожено эмбрионов всего, п	16	18	17
из них эмбрионов мышей, п/%	8/100	9/100	9/100
из них эмбрионов коров, п/%	8/100	9/100	8/100
Оттаяно эмбрионов всего, п	16	18	17
из них эмбрионов мышей, п/%	8/100	9/100	9/100
из них эмбрионов коров, п/%	8/100	9/100	8/100
Сохранность после оттаивания, п/%	6/37,5±12,1	12/66,7±11,1*	15/88,2±8,3**
из них эмбрионов мышей, п/%	3/37,5	6/66,7	8/88,9
из них эмбрионов коров, п/%	3/37,5	6/66,7	7/87,5
Уровень дробления, п/%	1/16,7±15,2	8/66,7±13,6*	12/80,0±10,3**
из них эмбрионов мышей, п/%	1/33,3	4/66,7	7/87,5
из них эмбрионов коров, п/%	0	4/66,7	5/71,4

Примечание: здесь и далее: *P<0,1; **P<0,01.

Данные эффективности использования раствора глицерина различных концентраций при витрификации эмбрионов мышей и крупного рогатого скота приведены в таблице 2.

Результаты указывают на то, что применение в качестве криозащитной среды для витрификации зародышей млекопитающих 30%-ного раствора глицерина совместно с 0,7М сахарозой позволяет в наибольшей степени (среди исследуемых разведений глицерина) обеспечить сохранность эмбриоматериала после его разморозки – 82,4 %, что на 13,6 п. п. (P<0,1) выше по сравнению со II опытной группой и на 42,4 п. п. (P<0,01) выше по сравнению с I.

После культивирования эмбриоматериала млекопитающих максимальный уровень дробления клеток был отмечен в III опытной группе – 78,6 %. Это на 24,1 (P<0,1) и 61,9 п.п. (P<0,01) выше по сравнению со II и I группами эмбрионов соответственно.

Используемая для витрификации зародышей концентрация глицерина (30 %) обладает наибольшими протекторными свойствами среди исследуемых разведений данного криофликтика и обеспечивает высокую сохранность и жизнеспособность эмбриоматериала.

Таблица 2 – Эффективность использования глицерина при витрификации эмбрионов млекопитающих

Показатели	Группы эмбрионов		
	I	II	III
Заморожено эмбрионов всего, n	15	16	17
из них эмбрионов мышей, n/%	8/100	8/100	9/100
из них эмбрионов коров, n/%	7/100	8/100	8/100
Оттаяно эмбрионов всего, n	15	16	17
из них эмбрионов мышей, n/%	8/100	8/100	9/100
из них эмбрионов коров, n/%	7/100	8/100	8/100
Сохранность после оттаивания, n/%	6/40,0±12,6	11/68,8±11,6*	14/82,4±9,2**
из них эмбрионов мышей, n/%	4/50,0	6/75,0	7/77,8
из них эмбрионов коров, n/%	2/28,6	5/62,5	7/87,5
Уровень дробления, n/%	1/16,7±15,2	6/54,5±15,0*	11/78,6±11,0**
из них эмбрионов мышей, n/%	1/25,0	4/66,7	6/85,7
из них эмбрионов коров, n/%	0	2/40,0	5/71,4

Данные эффективности использования раствора ДМСО различных концентраций при витрификации эмбрионов мышей и крупного рогатого скота приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Эффективность использования диметилсульфоксида при витрификации эмбрионов млекопитающих

Показатели	Группы эмбрионов		
	I	II	III
Заморожено эмбрионов всего, n	15	17	17
из них эмбрионов мышей, n/%	8/100	9/100	9/100
из них эмбрионов коров, n/%	7/100	8/100	8/100
Оттаяно эмбрионов всего, n	15	17	17
из них эмбрионов мышей, n/%	8/100	9/100	9/100
из них эмбрионов коров, n/%	7/100	8/100	8/100
Сохранность после оттаивания, n/%	6/40,0±12,6	12/70,6±11,0*	7/41,2±11,9
из них эмбрионов мышей, n/%	3/37,5	6/66,7	4/44,4
из них эмбрионов коров, n/%	3/42,9	6/75,0	3/37,5
Уровень дробления, n/%	1/16,7±15,2	9/75,0±12,5**	2/28,7±17,1
из них эмбрионов мышей, n/%	0	5/83,3	1/25,0
из них эмбрионов коров, n/%	1/33,3	4/66,7	1/33,3

Применение в качестве криопротектора 20%-ного раствора диметилсульфоксида совместно с 0,7М сахарозой позволяет в наибольшей степени (среди исследуемых разведений ДМСО) обеспечить сохранность эмбриоматериала после его оттаивания – 70,6 %, что на 29,4 п. п. выше по сравнению с III опытной группой.

Низкая концентрация криопротектора в витрифицируемом растворе в совокупности со сверхбыстрой скоростью охлаждения и непродолжительным периодом эквilibрации привела к снижению уровня пригодных к трансплантации клеток до 40,0 % ($P < 0,1$) по сравнению со II группой исследуемого эмбриоматериала.

После культивирования деконсервированного жизнеспособного эмбриоматериала максимальный уровень дробления клеток отмечен во II опытной группе – в среднем 75,0 %, что на 46,3 и 58,3 п. п. ($P < 0,01$) выше по сравнению с III и I группами. Таким образом, применяемый для витрификации зародышей 20%-ный раствор ДМСО обладает наибольшими протекторными свойствами среди всех исследуемых его разведений и обеспечивает максимальную сохранность и жизнеспособность витрифицируемых эмбрионов.

Данные эффективности использования раствора 1,2-пропандиола различных концентраций при витрификации эмбрионов мышей и крупного рогатого скота приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Эффективность использования 1,2-пропандиола при витрификации эмбрионов млекопитающих

Показатели	Группы эмбрионов		
	I	II	III
Заморожено эмбрионов всего, п	13	15	17
из них эмбрионов мышей, п/%	7/100	8/100	9/100
из них эмбрионов коров, п/%	6/100	7/100	8/100
Оттаяно эмбрионов всего, п	13	15	17
из них эмбрионов мышей, п/%	7/100	8/100	9/100
из них эмбрионов коров, п/%	6/100	7/100	8/100
Сохранность после оттаивания, п/%	5/38,5±13,5	12/80,0±10,3*	8/47,1±12,1
из них эмбрионов мышей, п/%	3/42,9	6/75,0	4/44,4
из них эмбрионов коров, п/%	2/33,3	6/85,7	4/50,0
Уровень дробления, п/%	1/20,0±17,9	9/75,0±12,5*	3/37,5±17,1
из них эмбрионов мышей, п/%	1/33,3	5/83,3	2/50,0
из них эмбрионов коров, п/%	0	4/66,7	1/25,0

Данные таблицы указывают, что применение в качестве криопротектора 10%-го раствора 1,2-пропандиола совместно с 0,7М сахарозой позволяет в наибольшей степени (среди испытуемых разведений 1,2-пропандиола) обеспечить сохранность эмбриоматериала после его оттаивания – 80,0%, что на 32,9 п.п. выше по сравнению с III опытной группой.

Максимальный уровень дробления клеток был отмечен во II опытной группе эмбрионов, для витрификации которых использовали 10%-й раствор 1,2-пропандиола – 75,0 %, что на 37,5 и 55,0 п. п. выше по

сравнению с III и I ($P < 0,1$) группами эмбрионов соответственно. Можно заключить, что 10%-ное разведение исследуемого криофиликтика обеспечивает высокую сохранность эмбриоматериала и его жизнеспособность.

Результаты эффективности применения оптимальных концентраций различных криопротекторов при витрификации эмбрионов млекопитающих представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Сравнительная эффективность оптимальных концентраций различных криопротекторов при витрификации зародышей млекопитающих

Показатели	Группы эмбрионов			
	этиленгликоль	глицерин	ДМСО	1,2-пропандиол
Заморожено эмбрионов, п/%	17/100	17/100	17/100	15/100
Оттаяно эмбрионов, п/%	17/100	17/100	17/100	15/100
Сохранность после оттаивания, п/%	15/88,2	14/82,4	12/70,6	12/80,0
Уровень дробления, п/%	12/80,0	11/78,6	9/75,0	9/75,0

Результаты указывают на то, что наибольшими протекторными свойствами обладает 30%-ный раствор этиленгликоля: сохранность зародышей после их оттаивания находилась на максимально высоком уровне среди всех исследуемых криофиликтиков – 88,2 %, что на 5,8, 17,6 и 8,2 п. п. больше по сравнению с 30%-ным раствором глицерина, 20%-ным раствором диметилсульфоксида и 10%-ным раствором 1,2-пропандиола соответственно. При использовании 30%-ного раствора этиленгликоля установлен также максимальный уровень дробления эмбриоматериала после его оттаивания – 80,0 %, что на 1,4-5,0 п. п. выше среди всех исследуемых криофиликтиков.

Заключение. Определены оптимальные концентрации растворов высококонцентрированных криопротекторов (этиленгликоля, глицерина, диметилсульфоксида и 1,2-пропандиола) при витрификации зародышей млекопитающих.

Наибольшими протекторными свойствами обладает 30%-ный раствор этиленгликоля:

- сохранность зародышей после их оттаивания характеризуется максимально высоким значением среди всех исследуемых криопротекторов – 88,2 %, что на 5,8, 17,6 и 8,2 п. п. больше по сравнению с 30%-ным раствором глицерина, 20%-ным раствором диметилсульфоксида и 10%-ным раствором 1,2-пропандиола соответственно;

- установлен максимальный уровень дробления эмбриоматериала после его оттаивания и культивирования в инкубаторе – 80,0 %, что на

1,4-5,0 п. п. выше среди всех указанных растворов высококонцентрированных криофилактиков.

Литература

1. Пайтеров, С. Н. Эффективность применения раствора мелоксикама в трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / С. Н. Пайтеров, Д. М. Богданович // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства : материалы нац. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию со дня рожд. Заслуж. работника высшей школы РФ, Почетного профессора Брянской ГСХА, д-ра вет. наук, проф. А. А. Ткачева, 20-21 сент. 2018 г. – Брянск : Брянский ГАУ, 2018. – С. 119-122.
2. Пайтеров, С. Н. Эффективность использования пайкаметазона при криоконсервировании эмбрионов крупного рогатого скота / С. Н. Пайтеров, Д. М. Богданович // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства : материалы нац. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию со дня рожд. Заслуж. работника высшей школы РФ, Почетного профессора Брянской ГСХА, д-ра вет. наук, проф. А. А. Ткачева, 20-21 сент. 2018 г. – Брянск : Брянский ГАУ, 2018. – С. 123-126.
3. Bautista, J. A. In vitro viability of mouse 8-cell embryos vitrified in mole solution ethyleneglycol / J. A. Bautista, Y. Takahashi, H. Kanagava // Japan J. Vet. Res. – 1997. – Vol. 45, N 2. – P. 67-73.
4. Rapid freezing of mouse embryos in ethylene glycol at different preimplantation stages / S. Cseh [et al.] // Acta Vet. Hungarica. – 1996. – Vol. 44, N 4. – P. 457-465.
5. Day, M. L. A cytoplasmic cell cycle controls the activity of a K⁺ channel in preimplantation mouse embryos / M. L. Day, M. H. Johnson, D. J. Cook // The EMBO J. – 1998. – Vol. 17, N 7. – P. 1952-1960.
6. Shaw, J. M. Evaluation of propanediol, ethylene glycole, sucrose and antifreeze proteins on the survival of slow-cooled mouse pronucleare and 4-cell embryos / J. M. Shaw, C. Ward, A. O. Trounson // Hum. Reprod. – 1995. – Vol. 10, N 2. – P. 396-402.
7. Friedler, S. Cryopreservation of embryos and ova / S. Friedler, L. C. Ciudice, E. I. Lamb // Fertil. Steril. – 1988. – Vol. 49, N 5. – P. 743-764.
8. Leibo, S. P. Cryopreservation of gametes and embryos of non-domestic species / S. P. Leibo, V. Songsasen // Theriogenology. – 2002. – Vol. 57, N 1. – P. 303-326.
9. Nakao, K. Simple and efficient vitrification procedure for cryopreservation of mouse embryos / K. Nakao, N. Nakagata, M. Katsuki // Exp. Anim. – 1997. – Vol. 46, N 3. – P. 231-234.
10. Trounson, A. O. Ultrarapid freezing a new low-cost and effective method of embryo cryopreservation / A. O. Trounson, A. Peura, C. Kirby // Fertil. Steril. – 1987. – Vol. 48, N 5. – P. 843-850.
11. Embryonic behavior of two-cell mouse embryos frozen by the one- and two-step ultrarapid techniques / S. Vasuthevan, S. C. Ng, A. Bongso, S. S. Ratnam // J. Assist. Reprod. Genet. – 1992. – Vol. 9, N 2. – P. 545-550.
12. Gurtuvenko, A. A. Modulating the structure and properties of cell membranes: the molecular mechanism of action of dimethylsulfoxide / A. A. Gurtuvenko, J. Anwar // J. Phys. Chem. B. – 2007 – Vol. 6, N. 111. – P. 10453-10460.
13. Эффективность применения раствора мелоксикама в воспроизводстве и трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / Д. М. Богданович [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2018. – Т. 53, ч. 1 : Генетика, разведение, селекция, биотехнология размножения и воспроизводство. Технология кормов и кормления, продуктивность. – С. 29-38. – Авт. также: Пайтеров С.Н., Кирикович Ю.К., Жданович В.В.

Поступила 13.03.2020 г.