

8. Seidel, G. E. Jr. Overview of sexing sperm / G. E. Jr. Seidel // *Theriogenology*. – 2007. – Vol. 68. – P. 443-446
9. Validating bovine sexed semen samples using quantitative PCR / H. Joerg [et al.] // *J. Anim. Breed. Genet.* – 2004. – Vol. 121. – P. 209-215.
10. Johnson, L. A. The Beltsville sperm sexing technology: high-speed sorting gives improved sperm output for IVF and A.I. / L. A. Johnson, G. R. Welch, W. Rens // *J. Anim. Sci.* – 1999. – Vol. 77, Suppl. 2. – P. 213-220.
11. Johnson, L. A. Sex preselection: high-speed flow cytometric sorting of X- and Y- sperm for maximum efficiency / L. A. Johnson, G. R. Welch // *Theriogenology*. – 1999. – Vol. 52. – P. 1323-1341.
12. Johnson, L. A. Flow sorting of X- and Y- chromosome-bearing mammalian sperm: activation and pronuclear development of sorted bull, boar, and ram sperm microinjected into hamster oocytes / L. A. Johnson, R. N. Clarke // *Gamete Res.* – 1988. – Vol. 21. – P. 335-343.
13. Sexing of sperm by flow cytometry / J. M. Morrell [et al.] // *Vet. Record*, 1988, 122: 322-324
14. Cran D.G., Johnson L.A., Miller N.G. e. a. Production of bovine calves following separation of X- and Y- chromosome-bearing sperm and in vitro fertilization / D. G. Cran [et al.] // *Vet. Record*. – 1993. – Vol. 132. – P. 40-41.
15. Cran, D. G. Sex preselection in cattle: a field trial / D. G. Cran, L. A. Johnson, C. Polge // *Vet. Record*. – 1995. – Vol. 136. – P. 495-496.
16. In vitro production of Holstein embryos using sex-sorted sperm and oocytes from selected cull cows / R. D. Wilson [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2005. – Vol. 88. – P. 776-782.
17. Developmental potential of vitrified Holstein cattle embryos fertilized in vitro with sex-sorted sperm / J. Xu [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2006. – Vol. 89. – P. 2510-2518.
18. DNA integrity in sexed bull sperm assessed by neutral Comet assay and sperm chromatin structure assay / G. B. Boe-Hansen [et al.] // *Theriogenology*. – 2005. – Vol. 63. – P. 1789-1802.
19. Rath, D. Application and commercialization of flow cytometrically sex-sorted semen / D. Rath, L. Johnson // *Reprod. Domest. Anim.* – 2008. – Vol. 43. – P. 338-346.
20. Cran D. G. Semen sexing, practice and application. Third conf. of Europe Society for domestic animal reprod. Anger, France, 1999: 18-19.
21. Seidel, Jr. G. E. Sexing mammalian sperm-intertwining of commerce, technology, and biology / Jr. G. E. Seidel // *Anim. Reprod. Sci.* – 2003. – Vol. 79. – P. 145-156.

Поступила 20.04.2021 г.

УДК 636.2:612.64

Л.В. ГОЛУБЕЦ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА IN VIVO И IN VITRO

*Гродненский государственный аграрный университет,
г. Гродно, Республика Беларусь*

Большое значение в повышении эффективности вспомогательных репродуктивных технологий in vivo и in vitro имеет эмбриопродуктивность доноров. Важную роль в повышении ее уровня может сыграть оптимизация использования доноров. В процессе

проведения исследований изучалась эффективность использования доноров для получения эмбрионов по технологиям *in vivo* и *in vitro*. Всего был использован 31 донор. Проведена 1031 аспирация (33.3 на донора) и 96 извлечений (3.1 на донора). Получено 803 эмбриона *in vitro* (27.8 на донора и 0.9 на аспирацию) и 601 эмбрион *in vivo* (19.4 на донора и 6.2 на извлечение). В процессе исследований отмечены индивидуальные различия доноров по эмбриопродуктивности. Так, у 16.1% животных (5 голов: 2 *in vitro* и 3 *in vivo*) эмбрионы не получены, у 22.6% (7 голов) получены одинаково высокие результаты как *in vitro* так и *in vivo*: более 1 эмбриона на аспирацию и свыше 5 эмбрионов на извлечение, у 22.6% (7 голов) получены более высокие результаты *in vivo*, а у 22.6% (7 голов) *in vitro*. Пять голов (16.1%) дали примерно одинаковые результаты как *in vivo* так *in vitro*, со средними показателями. Также установлено, что в пересчете на месячную эмбриопродуктивность технологии *in vitro* по своей эффективности превысила традиционную технологию трансплантации (*in vivo*) более чем в три раза 7.0 эмбрионов против 2.2, хотя при этом выход эмбрионов на одно извлечение был значительно выше по сравнению с выходом эмбрионов на одну аспирацию 6.2 против 0.9.

Ключевые слова: аспирация, ооциты эмбрионы, оплодотворение, культивирование, доноры *in vivo*, *in vitro*.

L.V. GOLUBETS

COMPARATIVE EFFICIENCY OF OBTAINING CATTLE EMBRYOS *IN VIVO* AND *IN VITRO*

Grodno State Agrarian University, Grodno, Republic of Belarus

The embryoproductivity of donors is of great importance in increasing efficiency of secondary reproductive technologies *in vivo* and *in vitro*. Optimizing use of donors can play an important role in raising its level. In the course of the research, the efficiency of donors used for obtaining embryos with *in vivo* and *in vitro* technologies has been studied. A total of 31 donors were used. There were 1031 aspirations (33.3 per donor) and 96 extractions (3.1 per donor). 803 *in vitro* embryos were obtained (27.8 per donor and 0.9 per aspiration) and 601 *in vivo* embryos (19.4 per donor and 6.2 per extraction). In the course of the research, individual differences in embryoproductivity of donors were noted. So, in 16.1% of animals (5 animals: 2 *in vitro* and 3 *in vivo*) embryos were not obtained, in 22.6% (7 animals) equally high results were obtained both *in vitro* and *in vivo*: over 1 embryo per aspiration and over 5 embryos per extraction, 22.6% (7 animals) obtained higher results *in vivo*, and 22.6% (7 animals) *in vitro*. Five animals (16.1%) showed approximately the same results both *in vivo* and *in vitro*, with average values. It has been also determined that, in terms of monthly embryo productivity of *in vitro* technology, its efficiency exceeded the traditional technology of transplantation (*in vivo*) over three times – 7.0 embryos versus 2.2, although the yield of embryos per extraction was significantly higher compared to the yield of embryos per aspiration – 6.2 versus 0.9.

Keywords: aspiration, oocytes, embryos, fertilization, cultivation, donors, *in vivo*, *in vitro*.

Введение. Научные и технологические успехи, достигнутые за последние десятилетия в области воспроизводства животных, привели к разработке множества принципиально новых методических подходов повышения его эффективности, обычно называемых вспомогательными репродуктивными технологиями (ВРТ). Основной целью данных новшеств является увеличение количества потомков от племенных

животных и распространение ценного генетического материала по всему миру [1, 2, 3]. Кроме того, вспомогательные репродуктивные технологии позволяют использовать доноров с нарушением некоторых воспроизводительных функций, сохранять виды и породы домашних животных, находящихся под угрозой исчезновения, снижать риски передачи различных заболеваний.

В то время как мировое производство эмбрионов *in vivo* (МОЕТ) и их трансплантация в последние годы стабилизировались, производство и трансплантация эмбрионов, полученных *in vitro* (IVP), продолжает расти со средним ежегодным темпом роста 12% [4]. Согласно данным, зарегистрированным Международным обществом трансплантации эмбрионов (IETS) впервые количество жизнеспособных эмбрионов IVP превысило количество эмбрионов, произведенных *in vivo* в 2016 году. Эта тенденция показывает на сдвиг среди производителей семенного материала от традиционного МОЕТ к IVP. Вспомогательные репродуктивные методы оказались успешными в коммерческой сфере, помогая практикующим специалистам животноводства улучшать репродуктивные показатели, эффективность селекционного процесса и генетический эффект [5].

Производство эмбрионов *in vitro* и другие вспомогательные репродуктивные технологии крупного рогатого скота за последние годы продемонстрировали значительный прогресс. Однако несмотря на очевидные успехи существует ряд нерешенных вопросов IVP, которые ограничивают более широкое внедрение технологии в селекционно-племенную работу. Это и снижение качества ооцитов после созревания (IVM), достаточно низкий выход эмбрионов и их более низкую криорезистентность и приживляемость [6, 7, 8, 9]. Важной целью исследований, для понимания и использования материнских факторов, является установление связи между эмбрионом и маточной средой [10, 11].

Цель работы – изучение сравнительной эффективности получения эмбрионов по технологиям *in vivo* и *in vitro*.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в отраслевой биотехнологической лаборатории по репродукции сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет» и в селекционно – генетическом центре ООО «Бетагран-Липецк» (РФ). Ооциты получали путем трансвагинальной пункции фолликулов с использованием ультразвуковой системы AlokaSSD 500, включающей в себя ультразвуковой сканер Aloka Prosound 2, ультразвуковой излучатель с частотой 7,5MHz, вакуумную помпу Craft suction unit, В качестве промывной жидкости использовали фосфатно-солевой буфер Дюльбекко с добавлением 50 мкг/мл гентамицина и 0,5% эстральной сыворотки. Локализацию ооцит-кумулясных комплексов

проводили с помощью фильтровальной системы EmSafe. Поиск и оценку качества полученных ооцитов осуществляли под бинокулярным микроскопом Olympus SZ51 при 16- и 90-кратным увеличении, соответственно. Пригодные для созревания ооцит-кумулюсные комплексы помещали в культуральную среду созревания и помещали в CO₂ инкубатор «Memmert» при температуре 38,7 °C с максимальной влажностью 96-98% и уровнем углекислого газа 5%.

Капацитация спермы осуществлялась с использованием градиента плотности Перколл, концентрация которой при оплодотворении составляла 1×10^{-6} /мл. Совместная инкубация продолжалась в течение 18-20 часов при температуре 38,7 °C, максимальной влажности и в присутствии 5% CO₂ в атмосфере. После завершения инкубации предположительные зиготы отмывались от спермы в среде для культивирования ранних зародышей и возвращались в CO₂ инкубатор на 7-9 дней, до получения эмбрионов на предимплантационных стадиях развития. Питательные среды для созревания, капацитации и оплодотворения были приготовлены по собственным методикам на основе реактивов фирмы Sigma. Вызывание у доноров множественной овуляции проводили путем инъекции фолликулостимулирующего гормона Плюсет в дозе 750МЕ, дважды в день, с 12-часовым интервалом в течении пяти дней. Через 72 часа после первой инъекции внутримышечно вводили простагландин в дозе 500мкг. По приходу в охоту животных осеменяли замороженно-оттаянной спермой два раза с интервалом в 12 часов. Эмбрионы извлекали на седьмой день после первого осеменения. Поиск и оценку качества эмбрионов проводили аналогично процедуре *in vitro*.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Из практики трансплантации эмбрионов хорошо известно о том, что не все доноры дают реакцию на гормональную обработку, не от всех доноров можно получить жизнеспособные эмбрионы. Не от всех доноров, которые подверглись процедуре трансвагинальной аспирации получают достаточное количество жизнеспособных ооцитов, и не все оплодотворенные яйцеклетки развиваются до стадии предимплантационных эмбрионов. В связи с чем вопрос оптимизации использования доноров является весьма актуальным [12].

В таблице 1 представлена эффективность использования одних и тех же доноров как по технологии *in vitro*, так и *in vivo*. Согласно данным таблицы средние показатели на донора при их использовании для производства эмбрионов *in vitro* выглядят следующим образом: число проведенных аспираций составило $33,3 \pm 4,33$ (lim 2–77), количество полученных эмбрионов $27,8 \pm 3,83$ (lim 0–80), выход эмбрионов на одну аспирацию – $0,9 \pm 0,10$ (lim 0–3,0). При их же использовании для получения эмбрионов по традиционной технологии, путем гормональной

стимуляции суперовуляции, проведено извлечений на донора – $3,1 \pm 0,33$ (lim 1–8), получено эмбрионов – $19,4 \pm 3,59$ (lim 0–82), в том числе $6,2 \pm 1,11$ эмбриона на одно извлечение (lim 0–27,3). Сравнительный анализ эффективности использования доноров при получении эмбрионов *in vivo* и *in vitro* показывает на их индивидуальные различия по эмбриопродуктивности в зависимости от того, какая технология используется. Так, от доноров 350214 и 305329 за 10 аспираций (6 и 4 соответственно) не получено ни одного эмбриона, в то время как после гормональной стимуляции суперовуляции от донора 305329 за три извлечения получен 1 эмбрион а от донора 350214 за одно – 20. И наоборот, от доноров 7023 и 247533 при гормональной стимуляции множественной овуляции эмбрионов не получено, в то время как при трансвагинальной пункции фолликулов от донора 7023 за 24 аспирации получено 10 эмбрионов ($0,4 \pm 0,10$ на аспирацию) а от донора 247533 за 27 аспираций 20 эмбрионов ($0,7 \pm 0,59$ эмбриона на аспирацию). От доноров 184737 и 4402 получено по одному эмбриону за три и одно извлечение, соответственно, что составило $0,3 \pm 0,50$ и 1.0 эмбриона на вымывание, в то же время их использование в качестве доноров ооцитов позволило получить 56 эмбрионов за 61 аспирацию от донора 184737 ($0,8 \pm 0,08$ эмбриона на аспирацию) и 29 эмбрионов за 43 аспирации от донора 4402 ($0,7 \pm 0,09$ эмбриона на аспирацию). Ряд доноров показали одинаково хорошие результаты как при их использовании *in vitro*, так и *in vivo*. Так, от донора 92849 получено 80 эмбрионов *in vitro* ($1,2 \pm 0,74$ на аспирацию) и 82 и 82 эмбриона *in vivo* ($27,3 \pm 2,02$ эмбриона на извлечение), от донора 2671 – 80 ($1,4 \pm 0,82$ на аспирацию) и 36 ($12,0 \pm 1,32$ на извлечение), от донора 5103 – 55 ($1,3 \pm 0,57$ на аспирацию) и 21 ($7,0 \pm 0,50$ на извлечение), от донора 2138 – 6 ($3,0 \pm 0,81$ на аспирацию) и 34 ($4,9 \pm 0,56$ на извлечение), от донора 330831 – 41 ($1,1 \pm 0,09$ на аспирацию) и 45 ($9,0 \pm 0,65$ на извлечение), от донора 247531 – 27 ($1,2 \pm 0,13$ на аспирацию) и 20 ($6,7 \pm 0,76$ на извлечение) соответственно. Таким образом, полученные результаты, указывающие на индивидуальные особенности доноров по эмбриопродуктивности в зависимости от того по какой технологии они используются, открывают широкие возможности повышения эффективности как технологии *in vivo*, так *in vitro* за счет оптимизации использования животных.

Как технология получения эмбрионов *in vivo*, так и технология *in vitro* направлены на максимальное использование репродуктивного и генетического потенциала животных с высокой племенной ценностью, с целью интенсификации и ускорения селекционного процесса.

Сравнительный анализ эффективности технологий согласно результатам, представленным выше, показывает, что по технологии *in vitro* на каждого донора в среднем было проведено $33,3 \pm 4,33$ аспирации,

получено $27,8 \pm 3,83$ эмбриона в том числе $0,9 \pm 0,10$ эмбриона на одну аспирацию. Следовательно, при проведении двух аспираций в неделю, как это было в нашей работе, месячная эмбриопродуктивность составит 7,2 эмбриона на донора. При использовании технологии *in vivo* на каждого донора было проведено $3,1 \pm 0,33$ вымывание, получено $19,4 \pm 3,59$ эмбриона в том числе $6,2 \pm 1,11$ эмбриона на извлечение. Согласно требованиям технологии, интервал между извлечениями, или интервал от отела до извлечения эмбрионов, составляет примерно 85 дней (60 дней непосредственный промежуток между обработками, три дня это время на прививание охоты, 10 дней от охоты до начала гормональной обработки, пять дней это гормональная обработка и искусственное осеменение и семь дней от первого осеменения до извлечения эмбрионов). Таким образом, 6,2 эмбриона получено за 85 дней. За это же время можно провести 22 аспирации и получить 19,8 эмбриона. Данный показатель в пересчете на месячную продуктивность составит 2,2 и 7,0 эмбриона, соответственно.

Таблица 1 – Эмбриопродуктивность доноров по технологиям *in vivo in vitro*

№ п/п	Донор	Эмбриопродуктивность доноров					
		трансвагинальная аспирация ооцитов			гормональная стимуляция суперовуляции		
		прове- дено аспира- ций	полу- чено эмбрио- нов	получено эмбрио- нов на одну ас- пирацию	прове- дено извле- чений	полу- чено эмбрио- нов	получено эмбрио- нов на одно из- влечение
1	2	3	4	5	6	7	8
1	79	44	40	$0,9 \pm 0,12$	1	12	12,0
2	330754	28	20	$0,7 \pm 0,11$	6	26	$4,3 \pm 0,31$
3	247531	23	27	$1,2 \pm 0,13$	3	20	$6,7 \pm 0,76$
4	184737	61	56	$0,9 \pm 0,08$	3	1	$0,3 \pm 0,50$
5	4402	43	29	$0,7 \pm 0,09$	1	1	1,0
6	330564	56	33	$0,6 \pm 0,08$	3	8	$2,7 \pm 0,29$
7	247313	54	37	$0,7 \pm 0,08$	3	19	$6,3 \pm 0,29$
8	2671	59	80	$1,4 \pm 0,82$	3	36	$12,0 \pm 1,32$
9	7023	24	10	$0,4 \pm 0,10$	1	0	0,0
10	247533	27	20	$0,7 \pm 0,59$	1	0	0,0
11	92849	46	54	$1,2 \pm 0,74$	3	82	$27,3 \pm 2,02$
12	5103	44	55	$1,3 \pm 0,57$	3	21	$7,0 \pm 0,50$
13	247574	40	28	$0,7 \pm 0,52$	1	0	0,0
14	184849	49	63	$1,3 \pm 0,71$	3	6	$2,0 \pm 0,58$
15	117313	24	15	$0,6 \pm 0,10$	5	42	$8,4 \pm 0,80$
16	350214	6	0	0,0	1	20	20,0
17	801023	74	56	$0,8 \pm 0,06$	1	2	2,0
18	117453	47	40	$0,9 \pm 0,07$	3	12	$4,0 \pm 0,50$
19	330831	38	41	$1,1 \pm 0,09$	5	45	$9,0 \pm 0,65$
20	247529	43	33	$0,8 \pm 0,12$	3	9	$3,0 \pm 0,50$

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8
21	330526	77	52	0,7±0,07	2	30	15,0±1,63
22	184697	37	18	0,5±0,09	3	17	5,7±1,04
23	247393	52	22	0,4±0,07	3	31	10,3±0,76
24	330902	4	3	0,6±0,22	3	6	2,0±1,22
25	305329	4	0	0,0	3	1	0,3±0,29
26	330844	6	10	1,7±0,31	1	3	3,0
27	330681	6	4	0,7±0,31	3	2	0,7±0,58
28	820922	4	4	1,0±0,32	8	43	5,4±0,62
29	12138	2	6	3,0±0,81	7	34	4,9±0,56
30	330916	6	5	0,8±0,28	3	7	2,3±0,58
31	12020	3	2	0,7±0,29	7	65	9,3±0,27
В среднем		33,3±4,3	27,8±3,8	0,9±0,1	3,1±0,3	19,4±3,6	6,2±1,1

Таким образом, согласно результатам наших исследований эффективность технологии *in vitro* по эмбриопродуктивности превышает традиционную технологию трансплантации более чем в три раза. Даже при проведении аспираций один раз в неделю превосходство составит 1,6 раза. Наши данные подтверждаются и другими исследованиями. Так, в сравнительных исследованиях J. Pontesa and at. ec. [13] получил достоверно более высокий выход эмбрионов при использовании технологии *in vitro* по сравнению с *in vivo* (9,4±5,3 против 6,5±3,7), а Bernal B. H. et al. [14, 15] отмечают что только отдельные доноры давали эмбрионы одинаково эффективно как *in vivo* так и *in vitro*. При этом следует отметить, что, получая результаты на уровне среднемировых, а это 1,5-2,0 эмбриона на аспирацию, и явной тенденцией к повышению эффективности процедур IVP, эти различия между производством эмбрионов *in vivo* и *in vitro* имеют все перспективы быть еще значительнее.

Заключение. Таким образом, по результатам исследований установлено, что у 5 животных (16.1%) эмбрионы не получены (2 головы *in vitro* и 3 *in vivo*), у 7 (22.6%) получены одинаково высокие результаты как *in vitro* так и *in vivo*: более 1 эмбриона на аспирацию и свыше 5 эмбрионов на извлечение, у 7 голов (22.6%) получены более высокие результаты *in vivo*, а у 7 (22.6%) *in vitro*. Пять голов (16.1%) дали примерно одинаковые результаты как *in vivo* так *in vitro*, со средними показателями. Эффективность технологии *in vitro*, в пересчете на месячную эмбриопродуктивность, превысила традиционную технологию трансплантации (*in vivo*) более чем в три раза 7,0 эмбрионов против 2,2.

Литература

1. Berglund, B. Genetic improvement of dairy cow reproductive performance / B. Berglund // Reproduction in Domestic Animals. - 2008. - Vol. 43. - P. 89-95.
2. Sirard M. 2018. 40 years of bovine IVF in the new genomic selection context. Reproduction, 156:R1-R7. Suthar VS and Shah RG 2009 Bovine in Vitro Embryo Production : An Overview. Vet. World 2(12). - P. 478-479.

3. Пайтеров, С. Н. Эффективность использования дексаметазона 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 проф. Брянской ГСХА, д-ра вет. наук, проф. А. А. Ткачева. – Брянск, 2018. – С. 123-126.
4. Recent advances in bovine *in vitro* embryo production: reproductive biotechnology: history and methods / L. B. Ferré [et al.] // *Animal*. – 2020. – Vol. 14, Issue 5. – P. 991-1004.
5. A historical perspective of embryo-related technologies in South America / J. H. M. Viana [et al.] // *Anim Reprod*. – 2018. – Vol. 15. – P. 963-970.
6. Improved cryopreservation of *in vitro*-produced bovine embryos using a chemically defined freezing medium / P. Bruyere [et al.] // *Theriogenology*. – 2012. – Vol. 78. – P. 1294–1302.
7. Optimization of *in vitro* bovine embryo production: effect of duration of maturation, length of gamete co-incubation, sperm concentration and sire / F. Ward [et al.] // *Theriogenology*. – 2002. – Vol. 57. – P. 2105–2117.
8. 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. – С. 29-38.
9. 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 проф. Брянской ГСХА, д-ра вет. наук, проф. А. А. Ткачева. – Брянск, 2018. – С. 119-122.
10. Baltz, J. M. Connections between preimplantation embryo physiology and culture. / J. M. Baltz // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. – 2013. – Vol. 30. – P. 1001–1007.
11. Factors influencing oocyte and embryo quality in cattle / Lonergan [et al.] // *Reproduction Nutrition Development*. – 2011. – Vol. 41. – P. 427–437.
12. Thompson, J. G. Bovine embryo culture *in vitro*: new developments and post-transfer consequences / J. G. Thompson, A. J. Peterson // *Human Reproduction*. – 2000. – Vol. 15. – P. 59–67.
3. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows / J. H. F. Pontesa [et al.] // *Theriogenology*. – 2009. – Vol. 71(4). – P. 690-697.
14. Comparison of *in vivo* and *in vitro* embryo production in Bonsmara donors / B. N. Bernal [et al.] // *Reproduction Fertility and Development*. – 2019. – Vol. 31(1). – P. 168.
15. Crosier, A. E. Influence of *in vitro* systems on embryo survival and fetal development in cattle / A. E. Crosier, C. E. Farin // *Theriogenology*. – 2001. – Vol. 55. – P. 151–170.

Поступила 20.04.2021 г.