Сельскохозяйственный журнал. 2023. № 4 (16). С. 76-85
Agricultural journal. 2023; 16 (4). P. 76-85

Зоотехния и ветеринария

Научная статья
УДК 636.32/.38.082
DOI 10.48612/FARC/2687-1254/008.4.16.2023

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ ОВУЛЯЦИИ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ДАТИРОВАННЫХ ЭМБРИОНОВ У ОВЕЦ

Али-Магомет Муссаевич Айбазов
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», Россия, Ставропольский край, Михайловск,
e-mail: info@fnac.center

Аннотация. В статье приводятся результаты поисковых работ по разработке оптимальной схемы гормональной индукции полиовуляции; определению времени и режима получения оплодотворенных ооцитов, находящихся на стадии 2 пронуклеусов для микроинъекции генной конструкции. В исследовании использовали 24 взрослых клинически здоровых овец. Овцам-донорам для пролонгации лютеиновой фазы и синхронизации полового цикла применяли интравагинальные пессарии, пропитанные 45 мг флюогестон ацетата. В качестве стимулятора фолликулогенеза применялся препарат Folltropin-V в общей дозе 220 мг. Оперативный доступ к внутренним половым органам осуществляли срединной вентральной лапаротомией. Все овцы-доноры (100 %) пришли в состояние эструса, однако только у 19 животных (79,2 %) была обнаружена множественная овуляция. Выяснено, что среднее время, проходившее от удаления пессария до начала охоты, составило 15,3 часа с достаточно широкими колебаниями от 9 до 29 часов. Среднее время, проходившее от удаления пессария до завершения признаков эструса, составило 42,7 часов с вариативностью показателя от 31 до 50 часов. Средняя продолжительность половой охоты в группе доноров составила 27,2 часа, при этом вариабельность – от 9 до 41 часа. Всего от 19 доноров с полиовуляцией было получено 117 гамет (6,16 клеток от 1 донора). При этом неоплодотворенных ооцитов обнаружено 32 (27,4 %, или 1,68 на 1 донора), на стадии 2 пронуклеусов выявлено 50 клеток (42,7 %, или 2,6 на 1 донора), иных клеток оказалось 35 (29,9 %, или 1,8 на 1 донора). Полученные данные не позволяют выявить и обосновать чёткие критерии времени оперативного вмешательства для получения оплодотворённых яйцеклеток на стадии 2 пронуклеусов. Однако на основе анализа полученных данных можно констатировать, что для расчёта времени извлечения гамет на определённой стадии развития у овец приоритетное значение имеют такие параметры, как начало охоты и длительность эструса. Данные параметры получены экспериментальным путём и могут служить в качестве ориентира при проведении работ по получению гамет на стадии 2 пронуклеусов.

Ключевые слова: овцы, гормоны, доноры, индукция суперовуляции, пронуклеус, эмбрионы

Для цитирования: Айбазов А.-М. М. Усовершенствование технологии множественной овуляции с целью получения датированных эмбрионов у овец // Сельскохозяйственный журнал. 2023. № 4 (16). С.76-85.

DOI 10.48612/FARC/2687-1254/008.4.16.2023

Zootechny and veterinary science

Original article

IMPROVEMENT OF MULTIPLE OVULATION TECHNOLOGY FOR THE PURPOSE OF OBTAINING DATED EMBRYOS IN SHEEP

Ali-Magomet M. Aibazov
FSBSI "North Caucasus Federal Agricultural Research Centre", Russia, Stavropol Territory, Mikhailovsk, e-mail: info@fnac.center

Abstract. The article presents the results of preconceptual study on the development of an optimal scheme for hormonal induction of polyovulation; determining the time and mode of obtaining fertilized oocytes at the stage of two pronuclei for microinjection of the gene construct. 24 adult clinically healthy sheep were used in the study. In order to prolong the luteal phase and synchronize the estrous cycle, sheep donors were treated with intravaginal pessaries soaked with 45 mg of flugestone acetate. Folltropin -V was used as a folliculogenesis stimulator at a total dose of 220 mg. Instant access to the internal genital organs was achieved through a ventral midline laparotomy. All sheep donors (100%) entered estrus, but only 19 animals (79,2%) were found to have multiple ovulation. It was found that the average time period from removal of the pessary to onset of estrus was 15,3 hours with wide variations from 9 to 29 hours. The average time period from removal of the pessary to the completion of estrus signs was 42,7 hours, with variability from 31 to 50 hours. The average duration of estrus in the donor group was 27,2 hours, with variability ranging from 9 to 41 hours. In total, 117 gametes (6,16 cells from 1 donor) were obtained from 19 donors with polyovulation. At the same time, 32 unfertilized oocytes were found (27,4% or 1,68 per donor). 50 cells were identified at the stage of two pronuclei (42,7% or 2,6 per donor). Also, there were 35 other cells (29,9 % or 1,8 per donor). The obtained data do not allow us to identify and justify clear criteria for the timing of operative measure to obtain fertilized eggs at the stage of two pronuclei. However, based on the analysis of the obtained data, it can be stated that to calculate the time of gamete retrieval at a certain stage of development in sheep, parameters such as the onset of estrus and the duration of estrus have priority. These parameters were obtained experimentally and could serve as a guideline when carrying out a work on obtaining gametes at the stage of two pronuclei.

Key words: sheep, hormones, donors, superovulation induction, pronucleus, embryos

For citation: Aibazov A.-M. M. Improvement of multiple ovulation technology for the purpose of obtaining dated embryos in sheep // Agricultural Journal. 2023. No. 4 (16). P. 76-85. DOI 10.48612/FARC/2687-1254/008.4.16.2023

Введение. Одной из ключевых вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) является техника множественной овуляции и эмбриотрансфера (МОЭТ) [1, 2, 3], широко использующаяся в мире для повышения эффективности воспроизводства в рамках программ разведения жвачных животных с целью существенного ускорения генетического прогресса [4, 5]. В то же время значительная изменчивость ответа яичников на использование стандартных методик индукции множественной овуляции критически ограничила широкое использование этой биотехнологии у мелких жвачных [6-8].

Исследователи считают, что непредсказуемость яичникового ответа на экзогенную гормональную стимуляцию, приводящая в одних случаях к достаточно успешным, а в других случаях – к неудовлетворительным результатам обусловлена разными факторами, подразделяя при этом их на внутренние и внешние. К основным внутренним факторам, которые могут влиять на результаты суперовуляции у овец, относят породу [9, 10] и фолликулярную популяцию, присутствующую в начале протокола суперовуляции [11]; к внешним факторам – сезон года, климатические условия содержания, вид препарата для индукции полиовуляции, схему его аппликации и другие [12].

Несмотря на то, что до сих пор исследователи получают противоречивые данные даже при использовании идентичных протоколов суперовуляции, технология МОЭТ будет интенсивно развиваться и одним из драйверов этого движения может стать технология трансгенеза и получения трансгенных животных.

Под трансгенезом понимают процесс переноса и интеграции чужеродной генетической информации в геном животных. Такая информация представляет собой либо отдельный участок ДНК с собственными (гомологичными) регуляторными последовательностями (эукариотическая транскрипционная единица), либо сконструированный из различных молекул ДНК гибридный (рекомбинантный) ген. Соответственно, трансгенные животные – это особи, в ДНК которых искусственно интегрирована чужеродная генетическая информация (трансген), в связи с чем эти животные могут иметь заданные характеристики.

В настоящее время для получения трансгенных животных используются несколько подходов. Наибольшее распространение получил метод микроинъекции чужеродной ДНК (чДНК), как правило плазмидных генно-инженерных конструкций, в пронуклеусы зигот [13].

Пронуклеус – это ядро спермия или яйцеклетки в процессе оплодотворения. Спермий становится пронуклеусом после того, как проникает в яйцеклетку, но до того, как его генетический материал сливается с генетическим материалом (ядром) яйцеклетки.

В научной литературе базовая методика проведения микроинъекций в пронуклеусы зигот и даже особенности, возникающие при проведении этой манипуляции у разных млекопитающих, достаточно подробно описаны [14]. Базовая сущность метода микроинъекции заключается во введении раствора генных конструкций (обычно 1-2 пкл раствора ДНК в концентрации, соответствующей 1 000 копиям в 1 пкл микроинъекционного раствора) в мужской пронуклеус зигот. При этом следует указать, что мужской пронуклеус является предпочтительным лишь в плане большей величины по сравнению с ядром яйцеклетки и, следовательно, лучшей визуализации. Исследователи доказали, что независимо от количества копий экзогенной ДНК (от 1 до нескольких сотен) или же при микроинъекции нескольких рекомбинантных конструкций встраивание копий в геном происходит, как правило, в одном сайте.

Несмотря на определённые успехи в создании трансгенных животных разных видов, следует признать, что эффективность трансгенеза до настоящего времени остаётся на низком уровне. Современная мировая практика в этой области показывает, что для получения одного трансгенного животного требуется большое количество эмбрионов на определённой стадии развития и большое число реципиентов, что значительно удорожает технологию. По-видимому, здесь следует разделить многочисленные проблемы трансгенеза на 2 крупных блока. Первый блок проблем связан с манипуляциями, которые должны привести к получению от животных-доноров гамет на стадии 2 пронуклеусов, а именно: отбор овец-доноров, применение оптимальной схемы индукции

полиовуляции, техника получения гамет методом лапаротомии или лапароскопии. Второй блок проблем связан с манипуляциями по оценке гамет, собственно микроинъецированием в пронуклеус генной конструкции, контролем выживаемости эмбрионов после микроинъекции, с подготовкой самок-реципиентов, техникой эмбриотрансфера, приживляемостью и ранним пренатальным развитием зигот, подвергнутых различным процедурам, связанным с введением в их пронуклеусы генно-инженерных конструкций [15].

Следует подчеркнуть, что разработанные и успешно применяемые классические схемы индукции полиовуляции не в полной мере отвечают требованиям получения гамет на стадии 2 пронуклеусов [16, 17, 18]. В первую очередь потому, что синхронность овуляции при традиционной технологии МОЭТ желательна, но не императивна, в то время как в технологии трансгенеза данный фактор считается критически важным. Во-вторых, в связи с тем, что в технологии трансгенеза используются эмбрионы на стадии 2 пронуклеусов, а эта фаза развития эмбриона, по разным оценкам, имеет продолжительность всего 6–8 часов, становится понятным, что экспериментатор жестко ограничен по времени. При этом у него нет никаких оснований для более или менее достоверного прогнозирования времени получения этих клеток.

В связи со сказанным считаем, что для разработки эффективной технологии получения трансгенных животных необходимы исследования по оптимизации схем гормональной индукции полиовуляции у овец, определению времени вымывания (получения) эмбрионов на стадии 2 пронуклеусов с желательной привязкой этого времени к какому-нибудь достоверному и верифицируемому этапу манипуляций.

Основной задачей собственных исследований являлось проведение поисковых работ по разработке оптимальной схемы гормональной обработки овец с целью вызывания синхронной полиовуляции; определению времени и режима получения оплодотворенных ооцитов, находящихся на стадии 2 пронуклеусов для микроинъекции генной конструкции.

Материал и методы исследований. Исследования проведены в лаборатории воспроизводства и репродуктивных технологий на опытной станции Всероссийского НИИ овцеводства и козоводства – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» Шпаковского района Ставропольского края, на экспериментальной базе ООО «Ставропольский фермер» (п. Ударный Прикубанского района Карачаево-Черкесской Республики). Объектом исследований стали взрослые овцематки пород российской селекции.

Для пролонгации овцам-донорам лютеиновой фазы и синхронизации полового цикла использовались интравагинальные пессарии (поролоновые губки), пропитанные 45 мг флюогестон ацетата. В качестве стимулятора фолликулогенеза применялся препарат Folltropin-V в общей дозе 220 мг, разделённой на 7 инъекций дважды в день с интервалом 12 часов, начиная с 12-го дня от начала гормональной обработки (день установки губки – день 0). На 14-й день донорам инъецировали по 0,1 мг ДВ простагландина F2α. На следующий день донору подкожно вводили Ovarelin в дозе 0,6 мл.

Первую выборку маток в охоте проводили через 3 часа после удаления губки и осуществляли её через каждые 2 часа. Выявление эстральной стадии полового цикла проводили при помощи баранов-пробников с подвязанными фартуками (из расчёта 1 баран:6 овец). Для осеменения самок, у которых была установлена течка, использовали ручную случку с баранами с доказанной фертильностью и высоким качеством спермопродукции.

Перед оперативным вмешательством доноров переводили на 24-часовую диету без корма и 12-часовую водную диету. Оперативный доступ к внутренним половым органам осуществляли срединной вентральной лапаротомией. Предварительно доноры были анестезированы внутривенной инъекцией Telasol**.** После вскрытия брюшной полости оценивали состояние внутренних половых органов, фиксировали количество жёлтых тел в яичниках. Только доноры, реагирующие на суперовуляторную обработку тремя или более свежими сформировавшимися жёлтыми телами, подвергались извлечению эмбрионов. Для этого рога матки выводили наружу и каждый рог матки промывали 40 мл фосфатно-буферного раствора (PBS) с 10 % фетальной телячьей сывороткой (FCS). Промывочный раствор вводили в матку за её конец с помощью внутривенного катетера 18 G и извлекали из основания рога матки с помощью силиконового уретрального катетера. Смыв матки поддерживали в PBS при 37 ^{0}С в течение 20 минут, а извлеченные эмбрионы исследовали с помощью стереомикроскопа при увеличении х 20. Во время процедур рога матки постоянно орошались стерильным 0,9%-ным физиологическим раствором при температуре 37 ^{0}С. После промывания их вводили обратно в брюшную полость, который орошали 0,9%-ным физиологическим раствором с 20 МЕ/мл гепарина натрия при 37 ^{0}С.

Эффективность схемы полиовуляции оценивали по следующим переменным: суперовуляторный ответ, выражаемый как процент овец, отвечающих на протокол суперовуляции; среднее количество жёлтых тел (ЖТ) на суперовулированную овцу. Идентифицировали и классифицировали полученные гаметы в соответствии с их морфологическим видом: общее количество полученных гамет и стадии развития эмбриона (неоплодотворенные ооциты, яйцеклетки на стадии 2 пронуклеусов, ранние эмбрионы, дегенерированные эмбрионы).

Результаты исследований и их обсуждение. Из 24 овец-доноров, подвергшихся гормональной индукции полиовуляции, в состояние эструса пришли все (100 %). Все животные были оперированы, однако только у 19 животных (79,2 %) обнаружили множественную овуляцию (более 3 сформировавшихся свежих жёлтых тел в одном яичнике).

Результаты эксперимента отражены в таблице 1.

Материалы таблицы демонстрируют, что среднее время, проходившее от удаления пессария до начала охоты составило 15,3 часа с достаточно широкими колебаниями от 9 до 29 часов. Среднее время, проходившее от удаления пессария до завершения признаков эструса, составило 42,7 часов с вариативностью показателя от 31 до 50 часов. Средняя продолжительность половой охоты в группе доноров составила 27,2 часа, при этом вариабельность – от 9 до 41 часа. Данные параметры получены экспериментальным путём и могут служить в качестве ориентира при проведении подобных работ. Лапаротомию в среднем проводили через 65,6 часов после удаления пессария (лимит – от 57 до 74 часов), или через 51,6 часов от начала охоты (лимит – от 33 до 59 часов), или через 23,3 часа от конца охоты (лимит – от 16 до 26 часов).

Всего от 19 доноров с полиовуляцией было получено 117 гамет на разной стадии (6,16 клеток от 1 донора). При этом неоплодотворённых ооцитов обнаружено 32 (27,4 %, или 1,68 на 1 донора), на стадии 2 пронуклеусов выявлено 50 клеток (42,7 %, или 2,6 на 1 донора), иных клеток оказалось 35 (29,9 %, или 1,8 на 1 донора).

Таблица 1

Результаты опыта по получению датированных по времени эмбрионов

№ животного	Эструс, от удаления пессария, ч.		Продолжительность охоты, ч.	Время предполагаемой овуляции, ч. от начала охоты/от удаления пессария
	начало	конец		
1	14	38	24	17/31
2	16	50	34	25/41
3	16	50	34	25/41
4	16	48	32	25/41
5	20	38	18	13/33
6	16	44	28	19/35
7	15	47	28	19/34
8	16	48	32	25/41
9	20	38	18	13/33
10	9	31	22	16/25
11	5	46	41	29/34
12	20	38	18	13/33
13	14	38	24	17/31
14	9	38	29	21/30
15	9	41	32	23/32
16	20	50	30	21/41
17	14	53	39	27/41
18	12	37	25	17/29
19	29	38	9	7/36
Среднее	**15,3**	**42,7**	**27,2**	**19,6/34,8**

Таблица 1 (а)

Результаты опыта по получению датированных по времени эмбрионов

Время операции по вымыванию эмбрионов, ч.			Полученные клетки (количество, качество и стадия развития)		
от удаления пессария	от начала охоты	от конца охоты	ооциты	**на стадии 2 пронуклеусов**	иные
63	59	25	2	**3**	4
73	58	24	1	**2**	1
74	58	24	2	**3**	2
72	56	24	2	**3**	3
62	42	24	1	**4**	1
68	52	24	2	**2**	3
66	51	23	1	**3**	4
72	56	24	1	**3**	1
62	42	24	0	**3**	3
57	48	27	3	**0**	0
62	57	16	2	**3**	3
62	42	24	1	**4**	1
63	59	25	2	**2**	3
64	55	26	1	**3**	2
67	58	26	2	**3**	1
69	52	19	1	**4**	1
71	56	20	1	**3**	2
57,5	45,5	20,5	3	**3**	0
62	33	24	4	**0**	0
65,6	**51,6**	**23,3**	**32/1,68**	**50/2,63**	**35/1,8**

Таким образом, в результате проведённых исследований получены новые научные знания об эффективности схемы гормональной индукции полиовуляции у овец; получены данные по времени хирургического извлечения гамет на стадии 2 пронуклеусов, пригодных для микроинъекций. Полученные результаты не позволяют выявить и обосновать чёткие критерии времени оперативного вмешательства для получения оплодотворённых яйцеклеток на стадии 2 пронуклеусов. В то же время результаты эксперимента дают основание утверждать, что нами впервые выявлены определённые приоритетные параметры, такие как начало и продолжительность эструса, наиболее тесно ассоциированные с оптимальным временем оперативного вмешательства и получения гамет на этой требуемой стадии. Это утверждение основано на расчётах, показавших, что продолжительность эстральной стадии полового цикла у овец-доноров прямо коррелировала с промежутком времени от её начала до лапаротомии и извлечения гамет.

Заключение. По результатам опыта и на основе анализа экспериментальных материалов можно сделать следующие обоснованные выводы.

1. При проведении биотехнологических работ по индукции полиовуляции с целью получения оплодотворённых яйцеклеток на стадии 2 пронуклеусов в качестве основного критерия должно быть определено время оплодотворения ооцитов in vivo. Однако на практике это является сложной задачей с учётом индивидуальных особенностей каждого животного, поэтому необходим большой массив данных, который позволит повысить объективность выводов.
2. Стадия 2 пронуклеусов у оплодотворённых ооцитов, необходимая для проведения микроинъекции генной конструкции, имеет продолжительность, по нашим данным, в среднем 3,6 часов, с колебаниями от 2 до 6 часов. Соответственно, время извлечения ооцитов должно определяться с точностью минимум 2 часа.
3. Для того, чтобы расчётным путём определить срок оплодотворения, необходимо учитывать 2 физиологических процесса, происходящих при индукции множественной овуляции: собственно процесс полиовуляции с обеспечением максимальной синхронности и время 1-го осеменения доноров в охоте с учётом транспорта спермиев в верхнюю трети яйцеводов, где происходит оплодотворение, и времени, необходимого для их капацитации.

Проведённые исследования являются поисковыми и требуют дальнейших экспериментов на большем материале для получения устойчиво верифицируемых результатов.

Список источников

1. Айбазов, А.-М.М., Мамонтова, Т.В., Сердюков, И.Г., Губаханов М.А. Результаты и перспективы использования вспомогательных репродуктивных технологий в воспроизводстве мелких жвачных животных // Овцы, козы и шерстяное дело. 2022. № 2. С. 8–14. DOI:10.26897/2074-0840-2022-2-8-14.
2. Maciel, G.S.; Rodriguez, M.G.K.; da Silva, P.D.A.; Nociti, R.P.; Uscategui, R.A.R.; Santos, V.J.C.; Feliciano, M.A.R.; Vicente, W.R.R.;Oliveira, M.E.F. (2017). Ovarian superstimulation treatment for multiple ovulation and embryo transfer programs in sheep. Investigação 16, 8. DOI:10.26843/investigacao.v16i8.1888.
3. Ciornei, ¸S. G., Drugociu, D., Ciornei, L., Rosca, P. (2022). Ovarian response to P4-PGF-FSH treatmentin Suffolk sheep and P4-PGF-PMSG synchronization in cross-bred ewes, for IVD and ET protocol.Veterinary Medicine and Science,1–9.

https://doi.org/10.1002/vms3.705

4. Haileslassie Weldemariam Gebrehiwot, Yisehak Tsegaye and Berihu Gebrekidan (2018) A Review on Current Status of Embryo Transfer Technology in Sheep and Goats. EC Veterinary Science 3.1: 250-259.

5. Cosentino, I.O., Balaro, M.F.A., Arashiro, E.K.N., Santos, J.D.R., Carvalho, A.B.S., Clariget, R.P., Perez, R., Ungerfeld, R., Brand˜ao, F.Z., 2019. Hormonal protocols for early resynchronization of ovulation in ewes: the use of progestagens, eCG, and inclusion of early pregnancy diagnosis with color Doppler ultrasound. Theriogenology 133, 113–118. DOI:10.1016/j.theriogenology.2019.04.033

6. Dias, J.H., Miranda, V.O., Oliveira, F.C., Vargas, S.F.Jr., Haas, C.S., Costa, V.G.G., Lucia Jr., T., Vieira, A.D., Corcini, C.D., Gasperin, B.G. (2020). Treatment with eCG and hCG to induce onset of estrous cycles in ewes during the non-breeding season: effects on follicular development and fertility. Anim. Reprod. Sci. 212, 106232. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106232.

7. Figueira, L.M.; Alves, N.G.; Souza-Fabjan, J.M.G.; Batista, R.I.T.P.; Arrais, A.M.; Lima, R.R.; Oliveira, M.E.F.; Fonseca, J.F. (2020). In vivo embryo production and recovery in lacaune ewes after imposing a superovulation treatment regimen is related to pFSH dose. Anim. Reprod. Sci. 223, 106625. DOI:10.1016/j.anireprosci.2020.106625.

8. Khan, S.U.; Jamal, M.A.; Su, Y.; Wei, H.-J.; Qing, Y.; Cheng, W. (2022). Towards Improving the Outcomes of Multiple Ovulation and Embryo Transfer in Sheep, with Particular Focus on Donor Superovulation. Vet.Sci. 9, 117. DOI: 10.3390/vetsci9030117.

9. Brasil, O.; Moreira, N.; Júnior, G.S.; Silva, B.; Mariante, A.; Ramos, A. (2016). Superovulatory and embryo yielding in sheep using increased exposure time to progesterone associated with a GnRH agonist. Small Rumin. Res., 136, 54–58. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.01.005.

10. Bartlewski, P.M. Recent advances in superovulation in sheep. Rev. Bras. Reprod. Anim. 2019, 43, 126–128.

11. Paramio, M.T., Izquierdo, D., 2014. Current status of In Vitro Embryo production in sheep and goats. Reprod. Don. Anim. 49, 37–48.

12. Panyaboriban, S., Suwimonteerabutr, J., Swangchan-Uthai, T., Tharasanit, T., Suthikrai, W., Suadsong, S., Techakumphu, M., 2018. A simplified superovulation protocol using split-single administration of Folltropin®-V in hyaluronan: application to purebred sheep. Vet Med-Czech 63, 321–328.

13. Baldassarre H, Wang B, Karatzas CN, et al. Production of transgenic goats bypronuclear microinjection of in vitro produced zygotes derived from oocytes recovered by laparoscopy. Theriogenology. 2003;59:831–9

14. Guzik A, Niemann H. Superovulation and recovery of zygotes suitable for microinjection in different breeds of sheep. Anim Reprod Sci. 1995;40:215–27

15. Айбазов М.М. Результаты приживляемости эмбрионов овец, полученных на разной стадии развития и криоконсервированных разными технологиями / Сельскохозяйственный журнал. 2023. №2 (16). С. 66–76.
DOI:10.48612/FARC/2687-1254/007.2.16.2023

16. Kaur, P., Swarankar, M.L., Maheshwari, M., Acharya, V., 2014. A comparative study between cleavage stage embryo transfer at day 3 and blastocyst stage transfer at day 5 in in-vitro fertilization/intra-cytoplasmic sperm injection on clinical pregnancy rates. J. Hum. Reprod. Sci. 7, 194–197.

17. Anakkul, N., Suwimonteerabutr, J., Tharasanit, T., Panyaboriban, S., Khunmanee, S.,

Thanomsuksinchai, N., Techakumphu, M., 2013. Production of black goat using laparoscopic artificial insemination and embryo transfer. Thai J. Vet. Med. 43, 259–263.

18. Khunmanee, S., Swangchan-Uthai, T., Suwimonteerabutr, J., Thiangthientham, P., Supappornchai, S., Techakumphu, M., 2019. Development of business models for indigenous genetic improvement in small ruminant farms through reproductive biotechnology. Thai J. Vet. Med. 49, 217–225.

References

1. Aibazov, A.-M.M., Mamontova, T.V., Serdyukov, I.G., Gubakhanov M.A. Results and prospects for the use of assisted reproductive technologies in the reproduction of small ruminants // Sheep, goats and wool business. 2022. No. 2. pp. 8-14. DOI:10.26897/2074-0840-2022-2-8-14

2. Maciel, G.S.; Rodriguez, M.G.K.; da Silva, P.D.A.; Nociti, R.P.; Uscategui, R.A.R.; Santos, V.J.C.; Feliciano, M.A.R.; Vicente, W.R.R.;Oliveira, M.E.F. (2017). Ovarian superstimulation treatment for multiple ovulation and embryo transfer programs in sheep. Investigação 16, 8. DOI:10.26843/investigacao.v16i8.1888.

3. Ciornei, S. G., Drugociu, D., Ciornei, L., Rosca, P. (2022). Ovarian response to P4-PGF-FSH treatmentin Suffolk sheep and P4-PGF-PMSG synchronization in cross-bred ewes, for IVD and ET protocol.Veterinary Medicine and Science, 1–9. https://doi.org/10.1002/vms3.705

4. Haileslassie Weldemariam Gebrehiwot, Yisehak Tsegaye and Berihu Gebrekidan (2018) A Review on Current Status of Embryo Transfer Technology in Sheep and Goats. EC Veterinary Science 3.1: 250-259.

5. Cosentino, I.O., Balaro, M.F.A., Arashiro, E.K.N., Santos, J.D.R., Carvalho, A.B.S., Clariget, R.P., Perez, R., Ungerfeld, R., Brand˜ao, F.Z., 2019. Hormonal protocols for early resynchronization of ovulation in ewes: the use of progestagens, eCG, and inclusion of early pregnancy diagnosis with color Doppler ultrasound. Theriogenology 133, 113–118. DOI:10.1016/j.theriogenology.2019.04.033

6. Dias, J.H., Miranda, V.O., Oliveira, F.C., Vargas, S.F.Jr., Haas, C.S., Costa, V.G.G., Lucia Jr., T., Vieira, A.D., Corcini, C.D., Gasperin, B.G. (2020). Treatment with eCG and hCG to induce onset of estrous cycles in ewes during the non-breeding season: effects on follicular development and fertility. Anim. Reprod. Sci. 212, 106232. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106232.

7. Figueira, L.M.; Alves, N.G.; Souza-Fabjan, J.M.G.; Batista, R.I.T.P.; Arrais, A.M.; Lima, R.R.; Oliveira, M.E.F.; Fonseca, J.F. (2020). In vivo embryo production and recovery in lacaune ewes after imposing a superovulation treatment regimen is related to pFSH dose. Anim. Reprod. Sci. 223, 106625. DOI:10.1016/j.anireprosci.2020.106625.

8. Khan, S.U.; Jamal, M.A.; Su, Y.; Wei, H.-J.; Qing, Y.; Cheng, W. (2022). Towards Improving the Outcomes of Multiple Ovulation and Embryo Transfer in Sheep, with Particular Focus on Donor Superovulation. Vet.Sci. 9, 117. DOI: 10.3390/vetsci9030117.

9. Brasil, O.; Moreira, N.; Júnior, G.S.; Silva, B.; Mariante, A.; Ramos, A. (2016). Superovulatory and embryo yielding in sheep using increased exposure time to progesterone associated with a GnRH agonist. Small Rumin. Res., 136, 54–58. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.01.005.

10. Bartlewski, P.M. Recent advances in superovulation in sheep. Rev. Bras. Reprod. Anim. 2019, 43, 126–128.

11. Paramio, M.T., Izquierdo, D., 2014. Current status of In Vitro Embryo production in sheep and goats. Reprod. Don. Anim. 49, 37–48.

12. Panyaboriban, S., Suwimonteerabutr, J., Swangchan-Uthai, T., Tharasanit, T., Suthikrai, W., Suadsong, S., Techakumphu, M., 2018. A simplified superovulation protocol using split-single administration of Folltropin®-V in hyaluronan: application to purebred sheep. Vet Med-Czech 63, 321–328.

13. Baldassarre H, Wang B, Karatzas CN, et al. Production of transgenic goats bypronuclear microinjection of in vitro produced zygotes derived from oocytes recovered by laparoscopy. Theriogenology. 2003;59:831–9

14. Guzik A, Niemann H. Superovulation and recovery of zygotes suitable for microinjection in different breeds of sheep. Anim Reprod Sci. 1995;40: 215–27

15. Aibazov M.M. Results of sheep embryos acceptance obtained at different stages of development and cryopreserved by different techniques / Agricultural Journal. 2023. No. 2 (16), 66 – 76. DOI:10.48612/FARC/2687-1254/007.2.16.2023

16. Kaur, P., Swarankar, M.L., Maheshwari, M., Acharya, V., 2014. A comparative study between cleavage stage embryo transfer at day 3 and blastocyst stage transfer at day 5 in in-vitro fertilization/intra-cytoplasmic sperm injection on clinical pregnancy rates. J. Hum. Reprod. Sci. 7, 194–197.

17. Anakkul, N., Suwimonteerabutr, J., Tharasanit, T., Panyaboriban, S., Khunmanee, S., Thanomsuksinchai, N., Techakumphu, M., 2013. Production of black goat using laparoscopic artificial insemination and embryo transfer. Thai J. Vet. Med. 43, 259–263.

18. Khunmanee, S., Swangchan-Uthai, T., Suwimonteerabutr, J., Thiangthientham, P., Supappornchai, S., Techakumphu, M., 2019. Development of business models for indigenous genetic improvement in small ruminant farms through reproductive biotechnology. Thai J. Vet. Med. 49, 217–225.

Информация об авторах

Али-Магомет Муссфевич Айбазов, заведующий лабораторией воспроизводства и репродуктивных технологий, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, тел. +79383510102, e-mail: velikii-1@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0002-3704-3210

Information about the authors

A.-M. M. Aibazov, Head of the Laboratory of Reproduction and Reproductive Technologies, Doctor of Agricultural Science, Professor, tel. +79383510102, e-mail: velikii-1@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0002-3704-3210

Статья поступила в редакцию 03.11.2023; одобрена после рецензирования 15.11.2023; принята к публикации 17.12.2023.

The article was submitted 03.10.2023; approved after reviewing 15.11.2023; accepted for publication 17.12.2023.

© Айбазов А.-М. М., 2023