

- чук, А.А. Водянов, В.П. Толоконников и др. – Ставрополь: АГРУС, 2009. – 60 с.
4. Стайков, В.В. Бабезиоз / В.В. Стайков // Ветеринария с.-х. животных. – 2007. – №7. – С. 23-25.
5. Терлецкий, А. Биология паразитирования и методы цитологической диагностики пред-
ставителей рода *Babesia* в крови животных и человека / А. Терлецкий, Л. Ахмерова, Э. Галиева и др. // Ветеринария с.-х. животных. – 2009. – №9. – С. 41-43.
6. Uilenberg G. *Babesia* – a historical overview / Uilenberg G. // Vet. Parasitol. – 2006. – №138. – P. 3-10.

УДК 636.2:612.64.089.67

ВЛИЯНИЕ КРАТНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОРОВ-ДОНОРОВ НА ВЫХОД ООЦИТ-КУМУЛЮСНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Л.В. Голубец¹, А.С. Дешко¹, Ю.А. Якубец¹, Д.В. Машталер², В.И. Белевич¹, Н.И. Целуева³, Д.Н. Кольцов³

¹ - УО «Гродненский государственный аграрный университет», ² - ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела», ³ - ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур»

Ключевые слова: крупный рогатый скот, донор, ооцит, *in vitro*, трансвагинальная аспирация ооцитов (ТАО), фолликул, экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), воспроизводство животных, трансплантация эмбрионов. **Key words:** cattle, donor, oocyte, *in vitro*, transvaginal oocyte aspiration (TOA), follicle, *in vitro* fertilization (IVF), animal reproduction, embryo transplantation.



РЕФЕРАТ

Известно, что с разработкой технологии искусственного осеменения, позволившей получать от одного производителя десятки тысяч потомков, роль быков в совершенствовании стада резко возросла. В то же время роль маток осталась на прежнем уровне. В условиях промышленной технологии за всю продуктивную жизнь она может произвести от 3 до 6 телят, в то время как в их яичниках насчитывается десятки тысяч потенциальных яйцеклеток. В работе представлены впервые проведенные в Республике Беларусь результаты исследований по изучению влияния биологических факторов прямого и опосредованного влияния на эффективность получения ооцитов в системе трансвагинальной аспирации. По результатам исследований не установлено достоверных различий по влиянию количества аспираций на выход ооцитов. Наибольшее количество ооцитов отличного и хорошего качества было отмечено у группы животных, аспирация у которых проводилась раз в неделю и составило 24,1%. Уровень извлекаемости ооцитов с частотой извлечения каждые 7 дней снижался по сравнению с частотой извлечения в 3 дня на 10,0 п.п. Вместе с тем выход ооцитов отличного и хорошего качества увеличивался незначительно (на 4,5 п.п. так же, как и выход пригодных клеток в целом, – на 2,9 п.п.) и находился в пределах погрешности. По количеству извлеченных ооцитов 78% животных показали более высокий результат через 7 дней. У доноров с количеством аспираций от 20 до 30 выход жизнеспособных клеток увеличивался до 84,4%. Полученные данные имеют практическую значимость для разработки технологии получения эмбрионов *in vitro* в системе трансвагинальной аспирации ооцитов, использование которой будет способствовать ускорению селекционного процесса и повышению эффективности селекционно-племенной работы в скотоводстве в целом.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что с разработкой технологии искусственного осеменения, позволившей получать от одного производителя десятки тысяч потомков, роль быков в совершенствовании стада резко возросла. В то же время роль маток осталась на прежнем уровне. В условиях промышленной технологии за всю продуктивную жизнь она может произвести от 3 до 6 телят, в то время как в их яичниках насчитывается десятки тысяч потенциальных яйцеклеток. Каким образом можно использовать данный потенциал?

Использование новейших достижений в биологии размножения крупного рогатого скота воплотилось в такую передовую технологию ускоренного воспроизводства животных как трансплантация эмбрионов, позволяющую повысить выход племенного молодняка от одной коровы до 5-10 телят в год, сократить генерационный интервал и значительно ускорить процесс качественного улучшения популяции крупного рогатого скота [1-3].

Маточное поголовье через своих сыновей оказывает значительное влияние на крупные популяции скота. Однако, при искусственном осеменении от коровы получают по одному теленку в год при вероятности рождения 50% бычков. В связи с этим большое значение приобретает получение быков-производителей от меньшего числа, но более ценных в генетическом отношении коров [4-6]. На что и направлена трансплантация эмбрионов.

Генетический эффект от трансплантации достигается прежде всего за счет улучшения точности оценки племенной ценности матерей, на основе повышения интенсивности отбора среди матерей отцов и матерей-матерей.

При использовании данной технологии для получения следующего материнского поколения можно из популяции отобрать лишь 10% лучших коров, в то время как при традиционных способах воспроизводства матерями следующего поколения является 100% коров. Сокращение доли матерей с 100% до 10% в результате использования эмбриотранс-

плантации возможно при условии ежегодного получения до 10 телят от каждой коровы-донора. При таком отборе интенсивность селекции может увеличиваться в 9 раз.

В последнее время открылись новые возможности интенсификации процессов воспроизведения высокоценных генотипов животных. Так, в процессе научного поиска было установлено, что ооциты, извлеченные из фолликулов, при создании соответствующих условий, способны возобновлять мейоз и созреть до стадии оплодотворения. Оплодотворение созревших вне организма яйцеклеток позволят получать эмбрионы на нужных стадиях развития, а их пересадка реципиентам - возможность получать племенной молодняк [7-8].

Выполняя ту же самую роль, что и традиционная технология трансплантации эмбрионов, технология получения эмбрионов в культуре *in vitro* имеет целый ряд преимуществ. В первую очередь она не требует гормональной обработки и не удлиняет сервис-период, а использование метода трансвагинальной аспирации ооцитов (ТАО), по международной классификации OvumPick-Up (OPU, позволяет получать эмбрионы без гормонального вмешательства независимо от полового цикла до двух раз в неделю без ущерба для здоровья животного и даже при 3-х месячной стельности. Извлекать ооциты у молодых животных. Кроме этого ооциты можно получать из яичников после убоя животного. Все это открывает новые возможности для массового производства эмбрионов с целью быстрого и качественного обновления или создания нового племенного ядра или высокопродуктивного стада.

Технология *in vitro* позволяет получать в принципе неограниченное количество ооцитов, оплодотворять их в культуре *in vitro* и в любой момент времени получать любое количество эмбрионов на нужной стадии, что обуславливает ее незаменимую роль в получении трансгенных животных-продуцентов дешевых и экологически безопасных биологически

Таблица 1

Влияние количества аспираций на выход ооцитов

Номерас- пирации	Все- го,голов	Группы животных				
		1	2	3	4	5
		Выход ОКК, п-%				
		0	До 3	4-7	8-10	более10
1-5	505	48-9,5	216-42,8	168-33,3	42-8,3	31-6,1
6-10	357	51-14,3	142-39,8	115-32,2	32-8,9	17-4,8
11-15	292	18-6,2	116-39,7	102-34,9	44-15,1	12-4,1
16-20	225	16-7,1	97-43,1	75-33,3	23-10,2	14-6,2
21-25	151	13-8,6	55-36,4	49-32,4	20-13,2	14-9,3
26-30	97	7-7,2	39-40,2	36-37,1	8-8,2	7-7,2
31-35	88	15-17,0	29-32,9	29-32,9	8-9,1	7-7,9
36-40	72	8-11,1	38-52,8	19-26,4	3-4,2	4-5,5
41-45	52	7-13,5	18-34,6	26-50,0	1-1,9	0
46-50	33	3-9,1	19-57,6	8-24,2	2-6,1	1-3,0
51-55	8	0	3-37,5	3-37,5	2-25,0	0
56-61	6	0	6-100	0	0	0

Таблица 2

Влияние кратности аспираций на их эффективность (п-%)

Кратность аспираций	К-во ас- пираций	К-во фолли- кулов	Получено ооцитов				
			Всего	Отл. и Хор.	Уд., и услов н. годн.	Всего при- год.	Не при- год.
1 раз в неде- лю	8	311	233-74,9	75- 24,1	105- 33,7	180- 57,9	53- 17,0
2 раза в неде- лю	8	310	252-81,3	59- 19,0	139- 44,8	198- 63,9	54- 17,4
1раз через неделю	8	287	212-73,9	60- 20,9	120- 41,8	180- 62,7	32- 11,1
2 раза в неде- лю через не- делю	8	284	223-78,5	52- 18,3	109- 38,4	161- 56,7	62- 21,8

Таблица 3

Влияние частоты аспираций на их эффективность (п-%)

Частота аспираций	К-во аспираций	К-во фолликулов	Получено ооцитов				
			Всего	Отл. и Хор.	Уд., и условн. годн.	Всего пригод.	Не пригод.
Через 7 дн	180	1214	1106-91,1	275-24,9	540-48,8	815-73,7	291-26,3
Через 3 дн	138	1003	814-81,1	239-29,4	385-47,3	624-76,6	190-23,3

Таблица 4

Влияние количества аспираций на их эффективность(п-%)

Количество-аспираций	К-водоноров	Получено ОКК				
		Всего	из них пригодных			Не пригодных
			Отл. и Хор.	Уд., и условн. годн.	Всего пригод.	
1-10	6	197	56-28,4	93-47,2	149-75,6	48-24,4
11-20	7	516	139-26,9	239-46,3	378-73,2	138-26,7
21-30	3	403	120-29,8	220-54,5	340-84,4	63-15,6
31-40	3	431	86-19,9	223-51,7	309-71,7	122-28,3
41-50	3	447	115-25,7	212-47,4	327-73,1	120-26,8
более 50	5	2121	359-16,9	974-45,9	1333-62,8	788-37,1
Итого	27	4115	875-21,3	1961-47,6	2836-68,9	1279-31,1

активных веществ и различных лекарственных препаратов [9-10].

С внедрением данных биотехнологий в практику животноводства появилась возможность определения пола животного на ранних стадиях развития эмбриона, что также очень важно в селекции и разведении крупного рогатого скота. Данные

технологии создают более благоприятные условия для использования мировых генетических ресурсов путем импорта глубоко замороженных эмбрионов вместо живого скота.

В отношении пользовательных животных, трансплантация эмбрионов дает возможность получения до 40% телят-двоен

у мясного скота и производства животных мясных пород в стадах молочных коров [11].

При интенсивном использовании коров в крупных общественных стадах ежегодно до 30% животных выбывает из основного стада по целому ряду причин. В число таких коров нередко попадают и очень ценные животные. Метод трансплантации эмбрионов и в этом случае может принести неоценимую пользу, так как позволяет от таких генетически ценных животных, сформированных в группу постоянных доноров, дополнительно получать племенную продукцию. При использовании таких коров до 4...5 раз в год, можно иметь около 10-12 телят.

Несложные расчеты показывают, что, отобрав 50 таких коров и используя их только в качестве доноров, можно ежегодно получать около 1000 полноценных эмбрионов и при их приживляемости после пересадки 50% от этой группы коров, можно иметь 500 телят в год [12-13].

Таким образом, за очень короткий период времени можно создать высокопродуктивное селекционное молочное стадо, а племпредприятие пополнить высококлассным ремонтным молодняком бычков. Животные, полученные биотехнологическим путем и имеющие общую наследственность (особенно монозиготные близнецы) представляют исключительную ценность и позволяют более точно анализировать проблемы физиологии, биохимии, генетики, иммунологии, воспроизводства, изучать влияние генетических кормовых факторов на эмбриональное развитие зародыша, определять причины гибели эмбрионов в предимплантационный и имплантационный периоды.

Таким образом, перечисленные выше биотехнологические направления интенсификации использования генетического ресурса высокопродуктивного скота, дополняя и расширяя друг друга, должны стать неотъемлемым звеном повышения эффективности селекционного процесса, расширения возможности использования репродуктивного потенциала не только быков-производителей, но и мате-

ринского стада. Особенно актуальным этот вопрос становится сегодня, когда в селекционно-племенной работе происходят кардинальные изменения, вызванные внедрением в практику племенного животноводства геномной селекции.

Существуют ли какие-либо пределы по количеству аспираций у одного и того же животного и как количество аспираций влияет на эффективность пункции фолликулов?

Цель работы: изучить влияние кратности использования коров-доноров на выход ооцит-кумулосных комплексов и определить оптимальный режим использования доноров.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились в рамках двух государственных программ научных исследований:

«Биотехнология» (подпрограмма «Развитие биологической науки, биологического образования и биологической промышленности на 2007-2011 год и на период до 2020 года»), «Наукоемкие технологии и техника на 2016-2020 годы» (подпрограммы 1 «Инновационные биотехнологии-2020»). Исследования проводили на базе биотехнологического центра по репродукции сельскохозяйственных животных Гродненского государственного аграрного университета и в учебно-практическом центре биотехнологий ОАО «Почапово» Пинского района Брестской области в 2013–2018 гг.

В качестве доноров ооцит-кумулосных комплексов (ОКК) использовали коров-доноров живой массой 650–850 кг в возрасте 4–8 лет с удоем по наивысшей лактации 11–13,5 тыс. кг молока жирностью 3,8 % и более.

Пункцию фолликулов проводили с использованием системы аспирации ОКК включающей в себя ультразвуковой сканер AlokaProsound 2, вакуумную помпу Craftsuctionunit, держатель ультразвукового излучателя, иглы. В качестве промывной жидкости использовали фосфатно-солевой буфер Дюльбекко с добавлением 100 ед/мл гентамицина и % BSA.

Локализацию ооцит-кумулюсных комплексов проводили с помощью эмбрионального фильтра EMCON, поиск и оценку качества полученных ооцитов осуществляли под микроскопом Olympus при 16- и 90-кратном увеличением соответственно. Качество ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК) оценивали по 4-балльной шкале. При этом основным критерием являлось наличие кумулюса и его качество. Ооциты отличного качества имели более трех слоев кумулюса, хорошего – 2–3 слоя, удовлетворительного – 1 слой кумулюса или его фрагменты на отдельных участках зоны пеллюциды, неудовлетворительные ооциты – это ооциты без кумулюса [13].

Аспирацию проводили в такой последовательности: один раз в неделю, два раза в неделю, один раз в неделю после недельного перерыва, два раза в неделю после недельного перерыва, а также через 3 и 7 дней.

Материалы исследований обработаны статистически по стандартным методикам (по П. Ф. Рокицкому (1973) и Н. А. Плохинскому (1969)) на персональном компьютере с использованием пакета программ MicrosoftOfficeExcel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из преимуществ трансвагинальной аспирации ооцитов, обусловленное наличием в яичниках в каждый конкретный момент времени популяции антральных фолликулов, является повторяемость процедуры. Возможность многократного извлечения ооцитов у одного и того же животного.

В первом опыте, доноры были разбиты на 5 групп: первая-животные у которых не было получено ни одного ооцита («нулевые» аспирации), во 2-ю группу вошли животные, у которых выход ОКК составлял 1-3, в третью - 4-7, в четвертую 8-10 и в пятую-свыше 10 ОКК.

В таблице 1 представлен выход ооцитов по группам животных по мере увеличения количества аспираций.

Как видно из представленных данных достоверных закономерностей и различий

между группами по мере увеличения количества аспираций не установлено. «Нулевые» аспирации колебались в пределах 0 до 17,0%, с выходом до трех ОКК от 34,6 до 100%, 4-7 ОКК от 24,2 до 50,0%, от 8 до 10 ОКК – от 1,9 до 25,0% и свыше 10 ОКК от 0 до 9,3%.

Известно, что режим использования доноров является одним из факторов, способных повлиять на эффективность аспираций. Анализируя данные, представленные в таблице 2, можно сделать вывод, что по уровню извлечения более эффективным оказался режим использования доноров с частотой два раза в неделю и составил 81,3%. В то же время наибольшее количество ооцитов отличного и хорошего качества было отмечено у группы животных, аспирация у которых проводилась раз в неделю и составило 24,1 % против 19,0 % при аспирации два раза в неделю, 20,9 % при аспирации один раз в неделю с интервалом через неделю и против 18,3 % при аспирации два раза в неделю с интервалом через неделю.

С целью изучения влияния частоты аспираций на их качество процедуру проводили каждые 3 или 7 дней по 12 (26 гол.) и 16 (26 гол.) аспираций подряд соответственно (табл. 3).

Как показывает анализ данных, приведенных в табл. 3, уровень извлекаемости ооцитов с частотой извлечения каждые 7 дней снижался по сравнению с частотой извлечения в 3 дня на 10,0 п.п. Вместе с тем выход ооцитов отличного и хорошего качества увеличивался незначительно (на 4,5 п.п. так же, как и выход пригодных клеток в целом, – на 2,9 п.п.) и находился в пределах погрешности.

По количеству извлеченных ооцитов 78% животных показали более высокий результат через 7 дней, однако такое превосходство колебалось в зависимости от донора в пределах 2,3–35,6 п.п. По выходу ооцитов отличного и хорошего качества у 56,5 % доноров их количество снижалось при аспирации через 7 дней на 5,3–22,8 п.п., а у 30,4 % увеличивалось на 2,2–14,6 п.п., у 13,0 % животных этот по-

казатель оставался на прежнем уровне.

Продолжительность использования доноров имеет важное значение как с физиологической, так и экономическое точки зрения. С целью определения эффективности аспирации ооцитов в зависимости от длительности их использования был проведен анализ результатов аспираций по 27 животным, которые были разбиты на группы, в зависимости от количества процедур: от 1 до 50 и более аспираций. Полученные результаты представлены в таблице 4.

Как показывает анализ представленных данных, за период исследований всего было получено 4115 ооцитов. Из них 2836 или 68,91% оказались пригодными для постановки на дозревание.

При этом выход пригодных от числа полученных в промежутке от 1 до 20 и с 30 до 50 аспираций оставался практически на неизменном уровне и колебался в пределах 71,7-75,6%. У доноров с количеством аспираций от 20 до 30 выход жизнеспособных клеток увеличивался до 84,4%. В тоже время анализ данных по пяти донорам, аспирированным более 50-ти раз, показал на снижение доли пригодных ооцитов до 62,8%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по результатам исследований не установлено достоверных различий по влиянию количества аспираций на выход ооцитов. «Нулевые» аспирации колебались в пределах 0 до 17,0%, с выходом до трех ОКК от 34,6 до 100%, 4-7 ОКК от 24,2 до 50,0%, от 8 до 10 ОКК – от 1,9 до 25,0% и свыше 10 ОКК от 0 до 9,3%.

По количеству извлеченных ооцитов 78% животных показали более высокий результат через 7 дней, однако такое превосходство колебалось в зависимости от донора в пределах 2,3–35,6 п.п. У доноров с количеством аспираций от 20 до 30 выход жизнеспособных клеток увеличивался до 84,4%.

Оптимальным режимом использования доноров является аспирация фолликулов один раз в неделю, что позволяет получить наибольшее количество ооци-

тов отличного и хорошего качества на уровне 24,1 %.

Полученные данные имеют практическую значимость для разработки технологии получения эмбрионов *in vitro* в системе трансвагинальной аспирации ооцитов, использование которой будет способствовать ускорению селекционного процесса и повышению эффективности селекционно-племенной работы в скотоводстве в целом.

The influence of the multiplicity of use of donor-cows to the exit of the oocyte-cumulus complexes. L.V. Golubets¹, A.S. Deshko¹, Yu.A. Yakubets¹, D.V.

Mashtaler², V.I. Belevich¹, N.I. Tselueva³, D.N. Koltsov³

¹ - EI «Grodno State Agrarian University» (Belarus, Grodno, 230008, 28 Tereshkova st.; e-mail: ggaubio@mail.ru)

² – FSBSI «All-Russian scientific-research Institute of breeding» ³ – FSBRI «Federal Research Center for Bast Fiber Crops»

ABSTRACT

It is known that with the development of artificial insemination technology, which allowed tens of thousands of descendants to be obtained from one producer, the role of bulls in improving the herd has increased dramatically. At the same time, the role of the uterus remained at the same level. Under the conditions of industrial technology, over the entire productive life, it can produce from 3 to 6 calves, while in their ovaries there are tens of thousands of potential eggs. This article presents the results of studies conducted in the Republic of Belarus for the first time on the influence of biological factors of direct and indirect influence on the efficiency of obtaining oocytes in the system of transvaginal aspiration. According to the results of studies, there were no significant differences in the effect of the number of aspiration on the oocyte yield. The greatest number of oocytes of excellent and good quality was observed in a group of animals whose aspiration was carried out once a week and amounted to 24.1%. The level of extractability of oocytes with the frequency of extraction every 7 days decreased compared with the frequency of extraction in 3 days by 10.0 p. p. At the same time, the yield

of oocytes of excellent and good quality increased slightly (by 4.5 p. p. as well as the yield of suitable cells in General - by 2.9 p. p.) and was within the error. By the number of extracted oocytes 78% of animals showed higher results after 7 days. In donors with the number of aspiration from 20 to 30, the yield of viable cells increased to 84.4%. The data obtained are of practical importance for development of technology for in vitro embryo production in the system of transvaginal aspiration of oocytes which will help to accelerate breeding process and increase efficiency of breeding work in livestock production in general.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boni, R. Ovum pick-up in cattle: a 25 yr retrospective analysis / R. Boni // *Animal Reproduction Science*. – 2012. Vol. 9. – P. 362-369.
2. Пестис, В.К. Эффективность получения ооцитов методом трансвагинальной аспирации у коров-доноров / В.К. Пестис, Л.В. Голубец, А.С. Дешко [и др.] // *Сельское хозяйство - проблемы и перспективы : сборник научных трудов / Учреждение образования "Гродненский государственный аграрный университет"*. - Гродно, 2014. - Т. 26 : Зоотехния. - С. 218-225.
3. Viana, J.H. M. Occurrence and characteristics of residual follicles formed after transvaginal ultrasound-guided follicle aspiration in cattle / J.H.M. Viana [et al.] // *Theriogenology*. – 2013. – Vol. 79. – P. 267-273.
4. Viana, J.H. Ovarian follicular dynamics, follicle deviation, and oocyte yield in Gyr breed (*Bosindicus*) cows undergoing repeated ovum pick-up / J.H. Viana, M.P. Palhao, L.G. Siqueira, J.F. Fonseca, L.S. Camargo // *Theriogenology*. – 2010. – Vol. 73. – P. 966-972.
5. Пестис, В.К. Первый опыт получения эмбрионов крупного рогатого скота *in vitro* в системе трансвагинальной аспирации ооцитов (ТАО) / В.К. Пестис, Л.В. Голубец, А.С. Дешко [и др.] // *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. (Серыя аграрных навук)*. - Мінск, 2015. - №1. - С. 86-91.
6. Pontes, J.H.F. Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bosindicus*) donors / J.H.F. Pontes [et al.] // *Theriogenology*. – 2011. – Vol. 75. – P. 1640–1646.
7. Пестис, В.К. Получение ооцитов коров путем трансвагинальной пункции фолликулов / Пестис В.К., Голубец Л.В., Дешко А.С., Кысса И.С., Попов М.В. // *Доклады Национальной академии наук Беларуси*. 2016. Т. 60, № 1. С. 123-128.
8. Bisinotto, R.S. Luteal function and follicular growth following follicular aspiration during the peri-luteolysis period in *Bosindicus* and crossbred cattle / R.S. Bisinotto [et al.] // *Reproduction in Domestic Animals*. – 2012. – Vol. 47. – P. 319-27.
9. Foster, B.A. 15 The effect of different bovine oocyte recovery methods on oocyte ultrastructure pre- and post-in vitro maturation / B.A. Foster, E.J. Gutierrez, K.R. Bondioli // *Reproduction, Fertility and Development*. – 2018. - Vol. 31. – P. 133-134.
10. Bisinotto, R.S. Luteal function and follicular growth following follicular aspiration during the peri-luteolysis period in *Bosindicus* and crossbred cattle / R.S. Bisinotto [et al.] // *Reproduction in Domestic Animals*. – 2012. – Vol. 47. – P. 319-327.
11. Manik, R.S. Collection of oocytes through transvaginal ultrasound-guided aspiration of follicles in an Indian breed of cattle / R.S. Manik, S.K. Singla, P. Palta // *Animal Reproduction Science*. – 2003. - Vol 76. – P. 155–161.
12. Пестис, В.К. Вспомогательные репродуктивные технологии в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота / В.К. Пестис, Л.В. Голубец, А.С. Дешко // *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. (Серыя аграрных навук)*. - Мінск, 2019. – Т. 72, №2. - С. 192-203.
13. Пестис, В.К. Трансвагинальная аспирация ооцитов крупного рогатого скота в культуре *in vitro* / В.К. Пестис, Л.В. Голубец, А.С. Дешко [и др.] // *Метод. рекомендации – Гродно : ГГАУ, 2015 – 48 с.*