

Животноводство и кормопроизводство. 2025. Т. 108. № 4. С. 31-40.
Animal Husbandry and Fodder Production. 2025. Vol. 108. No. 4. P. 31-40.

Научная статья
УДК 636.082.4:591.392
doi:10.33284/2658-3135-108-4-31

**Оптимизация условий *in vitro* развития OPU/IVP эмбрионов крупного рогатого скота:
значение смены среды культивирования**

Галина Николаевна Сингина¹, Роман Юрьевич Чинаров², Екатерина Николаевна Шедова³

^{1,2,3}Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста,
п. Дубровицы, Россия

¹g_singina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0198-9757>

²roman_chinarov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6511-5341>

³shedvek@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9642-2384>

Аннотация. Выделение ооцитов из фолликулов под ультразвуковым контролем (OPU) и последующее получение эмбрионов *in vitro* (IVP) – биотехнологический метод современного скотоводства, позволяющий воспроизводить большее количество потомства от высокоценных животных. Этапом OPU/IVP, моделированием которого можно повысить ее эффективность, является культивирование зрелых ооцитов после экстракорпорального оплодотворения до стадии бластоцисты (Бл). Цель исследования заключалась в изучении зависимости развития и качества IVP эмбрионов от условий обновления среды, в которой они культивируются *in vitro* (*in vitro* culture, IVC). OPU-ооциты коров после экстракорпорального созревания и оплодотворения переносили в среду ВО-IVC для культивирования и эмбрионального развития. Сравнивали два варианта инкубации: без смены среды (БСС) в течение 7 дней и с полной заменой среды (ПСС) через 3 суток IVC. Результаты показали, что по сравнению с непрерывным культивированием ПСС повышала выход бластоцист с $19,3 \pm 0,7$ до $31,7 \pm 2,0$ % ($P=0,005$). Кроме того, в варианте ПСС в сравнении с БСС наблюдалось увеличение процента бластоцист отличного и хорошего качества ($22,9 \pm 3,4$ против $53,6 \pm 5,9$ %, $P=0,011$). Следовательно, *in vitro* результативность развития эмбрионов крупного рогатого скота в ВО-IVC зависит от режима ее обновления: для достижения более высоких показателей выхода и качества бластоцист рекомендуется проводить полную замену этой среды через трое суток культивирования.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, owin pick up, получение эмбрионов *in vitro*, среда культивирования эмбрионов

Благодарности: работа выполнена в соответствии с планом НИР ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста (№ FGGN-2025-0008).

Для цитирования: Сингина Г.Н., Чинаров Р.Ю., Шедова Е.Н. Оптимизация условий *in vitro* развития OPU/IVP эмбрионов крупного рогатого скота: значение смены среды культивирования // Животноводство и кормопроизводство. 2025. Т. 108. № 4. С. 31-40. [Singina GN, Chinarov RYu, Shedova EN. Optimization of *in vitro* development conditions for OPU/IVP bovine embryos: the effect of medium replacement. Animal Husbandry and Fodder Production. 2025;108(4):31-40. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-108-4-31>

Original article

Optimization of *in vitro* development conditions for OPU/IVP bovine embryos: the effect of medium replacement**Galina N Singina¹, Roman Yu Chinarov², Ekaterina N Shedova³**^{1,2,3}Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member LK Ernst, Dubrovitsy, Russia¹g_singina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0198-9757>²roman_chinarov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6511-5341>³shedvek@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9642-2384>

Abstract. Oocyte retrieval from follicles under ultrasound guidance (OPU) and the subsequent *in vitro* embryo production (IVP) represent a modern biotechnological approach in cattle breeding that enables the generation of a greater number of offspring from genetically valuable animals. A stage of the OPU/IVP procedure, the optimization of which can substantially improve its efficiency, is the culture of matured oocytes after *in vitro* fertilization up to the blastocyst (Bl) stage. The aim of this study was to investigate the effect of culture medium renewal conditions on the development and quality of IVP embryos during *in vitro* culture (IVC). OPU-derived bovine oocytes, following *in vitro* maturation and fertilization, were transferred into BO-IVC medium for culture and embryonic development. The effects of not refreshing the IVC medium during the 7-day embryonic development period (NRM) and completely refreshed medium (CRM) on day 3 of IVC were compared. The results demonstrated that, compared with NRM, CRM increased blastocyst yield from $19.3 \pm 0.7\%$ to $31.7 \pm 2.0\%$ ($P=0.005$). In addition, a higher proportion of excellent- and good-quality blastocysts was observed in the CRM group compared with the NRM group ($53.6 \pm 5.9\%$ vs. $22.9 \pm 3.4\%$, $P=0.011$). Therefore, the *in vitro* developmental performance of bovine embryos in BO-IVC medium appears to depend on the medium renewal regimen. To achieve higher blastocyst yield and quality, a complete medium replacement on the third day of culture is recommended.

Keywords: cattle, oocyte pick up, *in vitro* embryo production, embryo culture medium

Acknowledgments: the work was performed in accordance to the plan of research works of the FGBNU FRC VIZh named after academician LK Ernst (No FGGN-2025-0008).

For citation: Singina GN, Chinarov RYu, Shedova EN. Optimization of *in vitro* development conditions for OPU/IVP bovine embryos: the effect of medium replacement. Animal Husbandry and Fodder Production. 2025;108(4):31-40. (In Russ.). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-108-4-31>

Введение.

Производство эмбрионов от живых доноров – биотехнологический подход в современном скотоводстве, позволяющий воспроизводить большее количество потомства от высокоценных животных. (Зиновьева Н.А. и Позябин С.В., 2020). Традиционно эмбрионы от доноров значимой селекции получают *in vivo* (*in vivo-derived*, IVD), проводя последовательно для каждой самки гормональную стимуляцию множественной овуляции, искусственное осеменение и вымывание эмбрионов на стадиях, пригодных для трансплантации (Бабенков В.Ю. и др., 2023). Альтернативой служит получение эмбрионов *in vitro* (*in vitro production*, IVP), когда ооциты выделяют из овариальных фолликулов самок методом трансвагинальной аспирации (OPU) и далее оплодотворяют в лабораторных условиях (Sanches BV et al., 2019). Оба варианта – как IVD, так и IVP – позволяют в дальнейшем пересаживать эмбрионы животным-реципиентам и воспроизводить потомство (Mullaart E et al., 2021). Статистические данные последних лет (Ferré LB et al., 2020a; Viana J, 2017; Viana J, 2023) показывают снижение мирового производства IVD-эмбрионов (с 495 тыс. в 2017 г. до 327 тыс. в 2023 г.), при этом объем IVP-эмбрионов устойчиво растет (с 992 тыс. в 2017 г. до 1876 тыс. в 2023 г.). Движущей силой такого прогресса является преимущество OPU/IVP технологии перед традиционным подходом как в интенсивности использования доноров (1-2 раза в неделю против 1 раз в 2 месяца), что позволяет существенно повысить выход эмбрионов, так и в отсутствие необходимости в гормональной обработке доноров перед процедурой OPU (Hansen PJ, 2023).

Известно, что эффективность технологии OPU/IVP зависит не только от качества половых клеток, выделяемых из овариальных фолликулов доноров (Aguila L et al., 2020), но и от условий, в которых они в дальнейшем развиваются *in vitro* (Ferré LB et al., 2020a), в частности, в период от оплодотворения до стадии бластоцисты (Бл). Современные протоколы культивирования эмбрионов позволяют получать Бл, пригодные для замораживания и трансплантации, однако они не обеспечивают необходимый уровень их качества и, следовательно, требуют уточнения и дальнейшей оптимизации (Ferré LB et al., 2020b).

У крупного рогатого скота (КРС) культивирование оплодотворенных ооцитов до стадии бластоцисты (*in vitro culture, IVC*) обычно продолжается около семи суток и проводится в специально разработанных средах, состав которых определяющим образом влияет как на развитие, так и качество IVP бластоцист. При этом характер эмбриотрофного эффекта используемых IVC-сред, согласно некоторым исследованиям, может меняться в зависимости от условий инкубации, включая параметры смены среды (Lonergan P et al., 2016; Amaral TF et al., 2022). Считается, что при длительном культивировании в среде могут накапливаться токсичные метаболиты, и чтобы избежать их отрицательного влияния на эмбрионы рекомендуется через 2-3 дня проводить полную замену IVC-среды (Takahashi M et al., 2000; Ferré LB et al., 2020b). Однако в ряде работ продемонстрирован негативный эффект указанной процедуры (Fukui Y et al., 1996) и рекомендовано проводить культивирование эмбрионов без обновления среды (Ikeda K et al., 2000; Qu P et al., 2017; Scioio R and Smith GD, 2019). Таким образом, несмотря на широкое применение технологии IVP, оптимальный режим смены среды культивирования эмбрионов для крупного рогатого скота остается неустановленным. Особенно это актуально в отношении недавно появившихся коммерческих растворов, по которым информация ограничена или отсутствует. Кроме того, нами не найдено ни одного сообщения, в котором бы эта проблема исследовалась применительно к эмбрионам, образовавшимся из OPU-ооцитов.

Цель исследования.

Оценить эффективность использования для эмбрионального развития оплодотворенных OPU-ооцитов коров коммерческого продукта ВО-IVC (IVF Bioscience, Великобритания) и изучить зависимость развития и качества IVP эмбрионов от условий обновления этой среды.

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Донорские ооциты КРС, а также развившиеся из них IVP эмбрионы.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями российских нормативных актов, протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009). При проведении исследований были предприняты меры для обеспечения минимума страданий животных-доноров.

Схема эксперимента. Исследования проводили в ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста <https://www.vij.ru/>. Выделенные методом трансвагинальной аспирации фолликулов ооциты были использованы для получения эмбрионов *in vitro* в соответствии с протоколом, описанным ранее (Сингина Г.Н. и др., 2024) и который кратко представлен ниже.

Полученные от каждого донора ооциты пригодного качества помещали в среду созревания и культивировали в условиях инкубатора в течение 24 часов. Затем созревшие ооциты переносили в среду для экстракорпорального оплодотворения, в качестве которой использовалась среда ВО-IVF (IVF Bioscience, Великобритания). Для оплодотворения бычьей сперму размораживали, и подвергали процедуре *swim-up* с использованием среды Sperm-TALP (Сингина Г.Н. и др., 2016). Полученную фракцию активных сперматозоидов вносили в среду оплодотворения с предварительно перенесенными туда ооцитами до конечной концентрации $1,5 \times 10^6$ сперматозоидов на 1 мл. Культивирование ооцитов с целью их созревания и оплодотворение происходило в условиях инкубатора при $+38,5^\circ\text{C}$ и 5 % CO_2 в атмосфере.

После 11-12 ч совместной инкубации, ооциты освобождали от клеток кумулюса и налипших сперматозоидов, после чего переносили в среду для эмбрионального развития, предварительно проведя морфологическую оценку количества ооцитов с полярными тельцами (ППТ). Отноше-

ние ооцитов с ППТ к исходному количеству оплодотворенных ооцитов являлось критерием оценки уровня ядерного созревания яйцеклеток. Культивирование после оплодотворения осуществлялось в каплях среды ВО-IVC (IVF Bioscience, Великобритания) объемом 100 мкл, покрытых минеральным маслом, при +38,5 °C в инкубаторе с газовой атмосферой, содержащей 5 % CO₂, 5 % O₂ и 90 % N₂. Исследовали два варианта инкубации: без смены среды (БСС) и с полной сменой среды (ПСС). В условиях БСС эмбрионы находились в исходной среде на протяжении всего 7-дневного периода культивирования, при ПСС через 3 суток IVС эмбрионы переносили в свежие капли среды аналогичного состава. Вне зависимости от режима через трое суток IVС оценивали количество раздробившихся ооцитов, на 7-е сутки культивирования определяли количество ооцитов, развившихся до стадии бластоцисты (Бл), а также морфологию последних. На основании морфологической оценки по классификации IETS (Bó GA and Mapletoft RJ, 2013) бластоцисты разделяли по стадиям развития, выделяя такие, как ранняя бластоциста (рБл); бластоциста (Бл) и экспандированная бластоциста (эксБл), а также по трем категориям качества. К категории I относили эмбрионы отличного и хорошего качества. Бластоцисты категории II имели удовлетворительное качество, а категории III – плохое качество и признаки низкой жизнеспособности.

Влияние тестируемых условий на эмбриональное развитие ооцитов оценивали:

- по доле дробления и развитию бластоцист – соответственно отношению раздробившихся ооцитов и достигших стадии Бл к исходному количеству отобранных для культивирования ооцитов;
- доле Бл различных стадий развития и доле Бл различных категорий качества, рассчитанных как процентное отношение к общему количеству, полученных бластоцист.

Оборудование и технические средства. Исследования выполнены с использованием приборной базы лабораторий ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста <https://www.vij.ru/>. В инкубаторе МСО-18А1С (Сапуо, Япония) проводили культивирование ооцитов в период их созревания и оплодотворения. планшетный инкубатор Planer (Origio, Дания) применялся для культивирования эмбрионов. Вне инкубаторов манипуляции с половыми клетками и эмбрионами выполнялись под стереомикроскопом (Nikon, Япония) при температуре +37 °C.

Статистическая обработка. Статистическую обработку данных проводили при помощи программы «SigmaStat» («Systat Software, Inc.», США). Число независимых опытов в каждой экспериментальной группе равнялось 3. Для оценки статистической значимости различий между сравниваемыми средними значениями использовали t-критерий Стьюдента, при этом был принят порог значимости $P \leq 0,05$.

Результаты исследования.

Используемые в эксперименте OPU ооциты (рис. 1А) имели равноценную способность к развитию *in vitro*: при двух сравниваемых вариантах результаты ядерного созревания не различались, и доля созревших ооцитов была высокой, превышая 80 % (табл. 1).

Таблица 1. Уровень созревания OPU-ооцитов в различных экспериментальных группах
Table 1. Maturation rate of OPU-derived oocytes in different experimental groups

Вариант инкубации / <i>Incubation condition</i>	Число ооцитов / <i>Number of oocytes, n</i>	Созревших ооцитов / <i>Mature oocytes</i>	
		n	%
Без смены среды/ <i>No refreshed medium</i>	131	110	84,567±1,472
Полная смена среды/ <i>Completely refreshed medium</i>	155	134	86,483±0,775

Результаты эмбрионального развития зрелых ОПУ-ооцитов представлены в таблице 2. Различий в доле раздробившихся ооцитов (рис. 1В), то есть полученных эмбрионов в целом, между сравниваемыми вариантами выявлено не было, но обнаружена зависимость от условий смены среды способности оплодотворенных яйцеклеток развиваться до стадии Бл (рис. 1С). Вариант БСС характеризовался наименьшим выходом бластоцист $19,3 \pm 0,7$ %. ПСС на третьи сутки инкубации эмбрионов значительно повышала этот показатель ($P=0,005$).

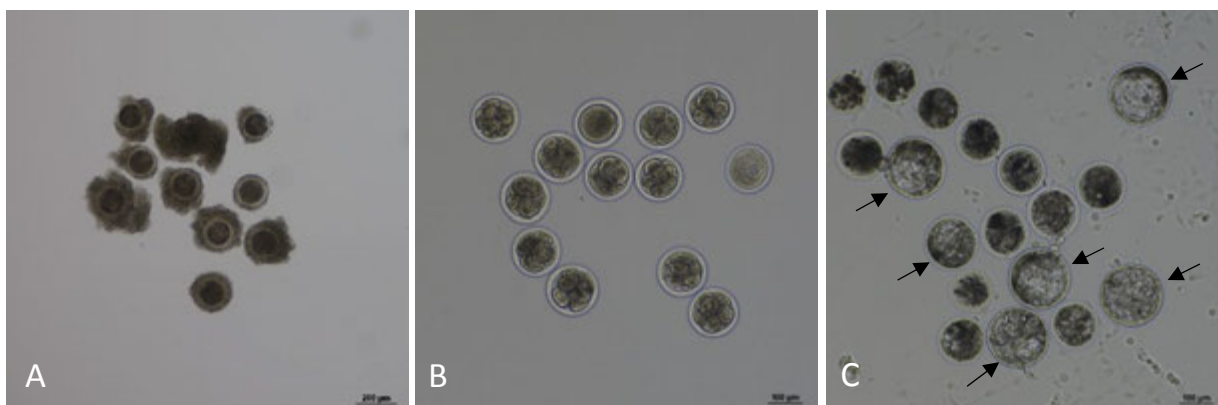


Рисунок 1. Микрофотографии (А) выделенных методом ОПУ ооцитов, а также ооцитов, (В) раздробившихся и (С) развившихся до стадии бластоцисты (указано стрелкой) после экстракорпорального оплодотворения

Figure 1. Microphotographs of (A) oocytes obtained by the OPU method, as well as oocytes that (B) cleaved and (C) developed to the blastocyst stage (indicated by an arrow) after in vitro fertilization

Таблица 2. Развитие созревших и оплодотворенных in vitro ооцитов до стадии бластоцисты (Бл) в зависимости от варианта смены среды эмбрионального развития (7-й день культивирования)

Table 2. Development of matured and in vitro fertilized oocytes to the blastocyst (Bl) stage depending on the mode of embryo culture medium replacement (day 7 of culture)

Вариант инкубации/ <i>Incubation condition</i>	Число ооцитов / <i>Number of oocytes, n</i>	Доля эмбрионов/ <i>Embryo rate, %</i>	
		всего/ <i>total</i>	на стадии Бл/ <i>at Bl stage</i>
Без смены среды / <i>No refreshed medium</i>	131	$73,067 \pm 1,048$	$19,300 \pm 0,723$
Полная смена среды/ <i>Completely refreshed medium</i>	155	$75,400 \pm 1,815$	$31,67 \pm 2,028^{**}$

Примечание: ** – $P=0,005$ при сравнении с вариантом без смены среды

Note: ** – $P=0.005$ when compared with the no refreshed medium variant

Характер обновления среды эмбрионального развития не оказывал существенного влияния на распределение полученных бластоцист по стадиям их развития (табл. 3). В исследуемых вариантах инкубации от 48 до 58 % эмбрионов имели морфологические признаки сформировавшейся бластоцисты, от 29 до 38 % находились на стадии ранней Бл и 11-12 % являлись экспандированными Бл.

Таблица 3. Морфологическая оценка стадии развития бластоцист (Бл), полученных при различных вариантах смены среды эмбрионального развития (7-й день культивирования)
Table 3. Morphological assessment of blastocyst (Bl) developmental stages obtained under different modes of embryo culture medium replacement (day 7 of culture)

Вариант инкубации/ <i>Incubation condition</i>	Число Бл <i>/Number of Bl, n</i>	Доля бластоцист различных стадий/ <i>Rate of blastocysts at different stages, %</i>		
		рБл/еБл	Бл/Бл	эксБл/ехБл
Без смены среды/ <i>No refreshed medium</i>	25	38,767±3,578	48,500±1,500	12,733±3,712
Полная смена среды/ <i>Completely refreshed medium</i>	49	29,833±4,506	58,367±7,000	11,800±2,536

Примечание: – стадия развития бластоцист: ранняя бластоциста (рБл); поздняя бластоциста (Бл); экспандированная бластоциста (эксБл).

Note: – blastocyst developmental stage: early blastocyst (eBl); blastocyst (Bl); expanded blastocyst (exBl)

Проводимая на 3-й день инкубации смена среды IVC положительно повлияла на качество IVP-эмбрионов (табл. 4). В случае ПСС доля бластоцист категории I, характеризующихся отличным и хорошим качеством, составляла 53,6 % и была выше, чем при варианте без смены среды ($P=0,011$). Напротив, при БСС большинство (51,6 %) бластоцист относилось к категории II, то есть имели лишь удовлетворительное качество, что было значительно выше по сравнению с ПСС ($P=0,006$). Кроме того, при непрерывном культивировании отмечалась тенденция к увеличению доли эмбрионов низкого качества — категории III ($P=0,075$).

Таблица 4. Качество 7-дневных бластоцист (Бл), полученных при различных вариантах смены среды эмбрионального развития
Table 4. Quality of day-7 blastocysts (Bl) obtained under different modes of embryo culture medium replacement

Вариант инкубации / <i>Incubation condition</i>	Число Бл / <i>Number of Bl, n</i>	Доля бластоцист различных категорий качества / <i>Rate of blastocysts of different quality categories, %</i>		
		I	II	III
Без смены среды/ <i>No refreshed medium</i>	25	22,867±3,48	51,633±1,500	25,500±4,366
Полная смена среды/ <i>Completely refreshed medium</i>	49	53,567±5,938*	34,300±2,857**	12,133±3,475

Примечание: I, II и III – соответственно бластоцисты 1, 2 и 3 категорий качества согласно классификации IETS (Bó GA and Mapletoft RJ, 2013); * и ** – соответственно $P=0,011$ и $P=0,006$ при сравнении с вариантом без смены среды.

Note: I, II, and III – blastocysts of quality categories 1, 2, and 3, respectively, according to the IETS classification (Bó GA and Mapletoft RJ, 2013); * and ** – $P=0.011$ and $P=0.006$, respectively, when compared with the no refreshed medium variant.

Обсуждение полученных результатов.

В данной работе культивирование эмбрионов до стадии бластоцисты осуществлялось в среде BO-IVC, производимой компанией IVF Bioscience. Согласно результатам более ранних ис-

следований, ее использование приводит к повышению выхода бластоцист по сравнению со средой SOF, чаще других применяемой для культивирования эмбрионов КРС (Nielsen JMK et al., 2014), и полученные бластоцисты характеризуются высокой жизнеспособностью (Gutierrez-Castillo E et al., 2021). В нашем исследовании уровень развития бластоцист был сопоставим с таковыми, приведенными в указанных работах.

Учитывая, что результативность использования сред эмбрионального развития может зависеть от режима их обновления, мы культивировали эмбрионы в ВО-IVC либо непрерывного в течение всего 7-дневного периода, то есть без смены среды (БСС), либо проводя полную смену среды после 3-го дня инкубации (ПСС). В результате такого сравнительного эксперимента было установлено повышение выхода бластоцист при ПСС по сравнению с БСС с $19,3 \pm 0,7$ до $31,7 \pm 2,0$ ($P=0,005$). Кроме того, смена среды IVС положительно повлияла на полноценность IVP-эмбрионов, увеличив долю бластоцист отличного и хорошего качества с $22,9 \pm 3,4$ до $53,6 \pm 5,9$ % ($P=0,011$).

Известно, что при IVP к процедуре обновления среды IVС прибегают, в первую очередь, с целью удаления из нее накопившихся токсинов, что, по мнению ряда исследователей, положительно сказывается на развитии эмбрионов *in vitro* (Takahashi M et al., 2000; Ferré LB et al., 2020b). В настоящем исследовании этот подход также продемонстрировал свою полезность в системе IVP. Тем не менее, в отличие от полученных нами данных, ранее при проведении экспериментов на крупном рогатом скоте было показано, что при использовании среды SOF полная смена среды в сравнении БСС, может снижать частоту развития бластоцист и ухудшать их качество (Fukui Y et al., 1996; Qu P et al., 2017). В некоторых случаях между этими вариантами культивирования различия вообще выявлены не были (Ikeda K et al., 2000). Можно предположить, что среды различного состава имеют отличные требования к параметрам инкубации.

Заключение.

Следовательно, *in vitro* результативность развития эмбрионов крупного рогатого скота в ВО-IVC зависит от режима ее обновления: для достижения более высоких показателей выхода и качества бластоцист рекомендуется проводить полную замену этой среды через трое суток культивирования.

Список источников

1. Зиновьева Н.А., Позябин С.В., Чинаров Р.Ю. Вспомогательные репродуктивные технологии: история становления и роль в развитии генетических технологий в скотоводстве (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55. № 2. С. 225-242. [Zinovieva NA, Pozyabin SV, Chinarov RYu. Assisted reproductive technologies: the history and role in the development of genetic technologies in cattle (review). Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2020;55(2):225-242. (In Russ.)]. doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.225rus doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.225eng
2. Получение эмбрионов *in vitro* методом межвидового оплодотворения яйцеклеток коров (*Bos taurus*) семенем зубра (*Bison bonasus*) / Г.Н. Сингина, В.А. Багиров, С.С. Данч, Т.Е. Тарадайник, А.В. Доцев, Н.А. Зиновьева // Сельскохозяйственная биология. 2016. Т. 51. № 6. С. 824-829. [Singina GN, Bagirov VA, Danch SS, Taradainik TE, Dotsev AV, Zinovieva NA. In vitro production of interspecies hybrid embryos of cattle (*Bos taurus*) and wisent (*Bison bonasus*). Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2016;51(6):824-829. (In Russ.)]. doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.824rus doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.824eng
3. Результаты выделения ооцитов и получения IVP эмбрионов у тёлочек истобенской породы в зависимости от режима проведения OPU / Г.Н. Сингина, Р.Ю. Чинаров, Е.Н. Шедова, В.А. Луканина, Жукова А.С. // Животноводство и кормопроизводство. 2024. Т. 107. № 4. С. 283-294. [Singina GN, Chinarov RYu, Shedova EN, Lukanina VA, Zhukova AS. Results of oocyte isolation and obtaining IVP embryos from heifers of Istoben breed depending on OPU regimen. Animal Husbandry and Fodder Production. 2024;107(4):283-294. (In Russ.)]. doi: 10.33284/2658-3135-107-4-283

4. Роль репродуктивных биотехнологий в воспроизводстве и сохранении генофонда редких и исчезающих пород крупного рогатого скота / В.Ю. Бабенков, Н.В. Чимидова, А.И. Хахлинов, А.В. Убушиева, В.И. Манжиев // Животноводство и кормопроизводство. 2023. Т. 106. № 1. С. 67-76. [Babenkov VYu, Chimidova NV, Khakhlinov AI, Ubushieva AV, Manjiev VI. The role of reproductive biotechnologies in the reproduction and preservation of the gene pool of rare and endangered breeds of cattle. Animal Husbandry and Fodder Production. 2023;106(1):67-76. (*In Russ.*)]. doi: 10.33284/2658-3135-106-1-67
5. Aguila L, Treulen F, Therrien J, Felmer R, Valdivia M, Smith LC. Oocyte selection for in vitro embryo production in bovine species: noninvasive approaches for new challenges of oocyte competence. *Animals*. 2020;10(12):2196. doi: 10.3390/ani10122196
6. Amaral TF, de Grazia JGV, Martinhao LAG, De Col F, Siqueira LGB, Viana JHM, Hansen PJ. Actions of CSF2 and DKK1 on bovine embryo development and pregnancy outcomes are affected by composition of embryo culture medium. *Scientific Reports*. 2022;12(1):7503. doi: 10.1038/s41598-022-11447-7
7. Bó GA, Mapletoft RJ. Evaluation and classification of bovine embryos. *Animal Reproduction*. 2013;10(3):344-348.
8. Ferré LB, Kjelland ME, Strøbech LB, Hyttel P, Mermillod P, Ross PJ. Review: Recent advances in bovine in vitro embryo production: reproductive biotechnology history and methods. *Animal*. 2020a;14(5):991-1004. doi: 10.1017/S1751731119002775
9. Ferré LB, Kjelland ME, Taiyeb AM, Campos-Chillon F, Ross PJ. Recent progress in bovine in vitro-derived embryo cryotolerance: impact of in vitro culture systems, advances in cryopreservation and future considerations. *Reproduction in Domestic Animals*. 2020b;55(6):659-676. doi: 10.1111/rda.13667
10. Fukui Y, Lee ES, Araki N. Effect of medium renewal during culture in two different culture systems on development to blastocysts from in vitro produced early bovine embryos. *Journal of Animal Science*. 1996;74(11):2752-2758. doi: 10.2527/1996.74112752x
11. Gutierrez-Castillo E, Ming H, Foster B, Gatenby L, Mak CK, Pinto C, Bondioli K, Jiang Z. Effect of vitrification on global gene expression dynamics of bovine elongating embryos. *Reproduction Fertility Development*. 2021;33(5):338-348. doi: 10.1071/RD20285
12. Hansen PJ. Review: Some challenges and unrealized opportunities toward widespread use of the in vitro-produced embryo in cattle production. *Animal*. 2023;17(S1):100745. doi: 10.1016/j.animal.2023.100745
13. Ikeda K, Takahashi Y, Katagiri S. Effect of medium change on the development of in vitro matured and fertilized bovine oocytes cultured in medium containing amino acids. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 2000;62(1):121-123. doi: 10.1292/jvms.62.121
14. Lonergan P, Fair T, Forde N, Rizos D. Embryo development in dairy cattle. *Theriogenology*. 2016;86(1):270-277. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.040
15. Mullaart E, Ludema G, Zijlstra A, Veldhuisen J. 64 No difference in health and fertility characteristics between offspring arising from in vitro production or multiple ovulation embryo transfer. *Reproduction Fertility and Development*. 2021;34(2):267-268. doi: 10.1071/RDv34n2Ab64
16. Nielsen JMK, Wrenzycki C, Hyttel P, Poppicht F, Strøbech L. New culture media affects blastocyst development and gene expression levels in in vitro-produced bovine embryos. *Reproduction Fertility Development*. 2014;27(1):206-207. doi: 10.1071/RDv27n1Ab234
17. Qu P, Qing S, Liu R, Qin H, Wang W, Qiao F, Ge H, Liu J, Zhang Y, Cui W, Wang Y. Effects of embryo-derived exosomes on the development of bovine cloned embryos. *PLoS ONE*. 2017;12(3):e0174535. doi: 10.1371/journal.pone.0174535
18. Sanches BV, Zangirolamo AF, Seneda MM. Intensive use of IVF by large-scale dairy programs. *Animal Reproduction*. 2019;16(3): 394-401. doi: 10.21451/1984-3143-AR2019-0058
19. Sciorio R, Smith GD. Embryo culture at a reduced oxygen concentration of 5 %: a mini review. *Zygote*. 2019;27(6):355-361. doi: 10.1017/S0967199419000522

20. Takahashi M, Keicho K, Takahashi H, Ogawa H, Schultz RM, Okano A. Effect of oxidative stress on development and DNA damage in in-vitro cultured bovine embryos by comet assay. *Theriogenology*. 2000;54(1):137-145. doi: 10.1016/s0093-691x(00)00332-0
21. Viana J. IETS 2017 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*. 2018;36(4):8-25.
22. Viana J. IETS 2023 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*. 2024;43(4):31-46.

References

1. Zinovieva NA, Pozyabin SV, Chinarov RYu. Assisted reproductive technologies: the history and role in the development of genetic technologies in cattle (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2020;55(2):225-242. doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.225rus doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.225eng
2. Singina GN, Bagirov VA, Danch SS, Taradainik TE, Dotsev AV, Zinovieva NA. In vitro production of interspecies hybrid embryos of cattle (*Bos taurus*) and wisent (*Bison bonasus*). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2016;51(6):824-829. doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.824rus doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.824eng
3. Singina GN, Chinarov RYu, Shedova EN, Lukanina VA, Zhukova AS. Results of oocyte isolation and obtaining IVP embryos from heifers of Istoben breed depending on OPU regimen. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2024;107(4):283-294. doi: 10.33284/2658-3135-107-4-283
4. Babenkov VYu, Chimidova NV, Khakhlinov AI, Ubushieva AV, Manjiev VI. The role of reproductive biotechnologies in the reproduction and preservation of the gene pool of rare and endangered breeds of cattle. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2023;106(1):67-76. doi: 10.33284/2658-3135-106-1-67
5. Aguila L, Treulen F, Therrien J, Felmer R, Valdivia M, Smith LC. Oocyte selection for in vitro embryo production in bovine species: noninvasive approaches for new challenges of oocyte competence. *Animals*. 2020;10(12):2196. doi: 10.3390/ani10122196
6. Amaral TF, de Grazia JGV, Martinhao LAG, De Col F, Siqueira LGB, Viana JHM, Hansen PJ. Actions of CSF2 and DKK1 on bovine embryo development and pregnancy outcomes are affected by composition of embryo culture medium. *Scientific Reports*. 2022;12(1):7503. doi: 10.1038/s41598-022-11447-7
7. Bó GA, Mapletoft RJ. Evaluation and classification of bovine embryos. *Animal Reproduction*. 2013;10(3):344-348.
8. Ferré LB, Kjelland ME, Strøbech LB, Hyttel P, Mermillod P, Ross PJ. Review: Recent advances in bovine in vitro embryo production: reproductive biotechnology history and methods. *Animal*. 2020a;14(5):991-1004. doi: 10.1017/S1751731119002775
9. Ferré LB, Kjelland ME, Taiyeb AM, Campos-Chillon F, Ross PJ. Recent progress in bovine in vitro-derived embryo cryotolerance: impact of in vitro culture systems, advances in cryopreservation and future considerations. *Reproduction in Domestic Animals*. 2020b;55(6):659-676. doi: 10.1111/rda.13667
10. Fukui Y, Lee ES, Araki N. Effect of medium renewal during culture in two different culture systems on development to blastocysts from in vitro produced early bovine embryos. *Journal of Animal Science*. 1996;74(11):2752-2758. doi: 10.2527/1996.74112752x
11. Gutierrez-Castillo E, Ming H, Foster B, Gatenby L, Mak CK, Pinto C, Bondioli K, Jiang Z. Effect of vitrification on global gene expression dynamics of bovine elongating embryos. *Reproduction Fertility Development*. 2021;33(5):338-348. doi: 10.1071/RD20285
12. Hansen PJ. Review: Some challenges and unrealized opportunities toward widespread use of the in vitro-produced embryo in cattle production. *Animal*. 2023;17(S1):100745. doi: 10.1016/j.animal.2023.100745
13. Ikeda K, Takahashi Y, Katagiri S. Effect of medium change on the development of in vitro matured and fertilized bovine oocytes cultured in medium containing amino acids. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 2000;62(1):121-123. doi: 10.1292/jvms.62.121

14. Lonergan P, Fair T, Forde N, Rizos D. Embryo development in dairy cattle. *Theriogenology*. 2016;86(1):270-277. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.040
15. Mullaart E, Ludema G, Zijlstra A, Veldhuisen J. 64 No difference in health and fertility characteristics between offspring arising from in vitro production or multiple ovulation embryo transfer. *Reproduction Fertility and Development*. 2021;34(2):267-268. doi: 10.1071/RDv34n2Ab64
16. Nielsen JMK, Wrenzycki C, Hyttel P, Poppicht F, Strøbech L. New culture media affects blastocyst development and gene expression levels in in vitro-produced bovine embryos. *Reproduction Fertility Development*. 2014;27(1):206-207. doi: 10.1071/RDv27n1Ab234
17. Qu P, Qing S, Liu R, Qin H, Wang W, Qiao F, Ge H, Liu J, Zhang Y, Cui W, Wang Y. Effects of embryo-derived exosomes on the development of bovine cloned embryos. *PLoS ONE*. 2017;12(3):e0174535. doi: 10.1371/journal.pone.0174535
18. Sanches BV, Zangirolamo AF, Seneda MM. Intensive use of IVF by large-scale dairy programs. *Animal Reproduction*. 2019;16(3): 394-401. doi: 10.21451/1984-3143-AR2019-0058
19. Sciorio R, Smith GD. Embryo culture at a reduced oxygen concentration of 5 %: a mini review. *Zygote*. 2019;27(6):355-361. doi: 10.1017/S0967199419000522
20. Takahashi M, Keicho K, Takahashi H, Ogawa H, Schultz RM, Okano A. Effect of oxidative stress on development and DNA damage in in-vitro cultured bovine embryos by comet assay. *Theriogenology*. 2000;54(1):137-145. doi: 10.1016/s0093-691x(00)00332-0
21. Viana J. IETS 2017 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*. 2018;36(4):8-25.
22. Viana J. IETS 2023 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*. 2024;43(4):31-46.

Информация об авторах:

Галина Николаевна Сингина, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией эмбриональных технологий, Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 142132, Московская область, городской округ Подольск, п. Дубровицы, д. 60, сот: 8-9851434552.

Роман Юрьевич Чинаров, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории эмбриональных технологий, Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 142132, Московская область, городской округ Подольск, п. Дубровицы, д. 60, сот: 8-9153899065.

Екатерина Николаевна Шедова, научный сотрудник, лаборатории эмбриональных технологий, Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 142132, Московская область, городской округ Подольск, п. Дубровицы, д. 60, сот: 8-9167117673.

Information about the authors:

Galina N Singina, Cand. Sci. (Biology), Head of the Laboratory of Embryonic Technologies, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member LK Ernst, 60 Dubrovitsy village, Podolsk City district, Moscow region, 142132, mobile: 8-9851434552.

Roman Yu Chinarov, Cand. Sci. (Veterinary), Senior Researcher, Head of the Laboratory of Embryonic Technologies, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member LK Ernst, 60 Dubrovitsy village, Podolsk City district, Moscow region, 142132, mobile: 8-9153899065.

Ekaterina N Shedova, Researcher, Head of the Laboratory of Embryonic Technologies, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member LK Ernst, 60 Dubrovitsy village, Podolsk City district, Moscow region, 142132, mobile: 8-9167117673.

Статья поступила в редакцию 06.10.2025; одобрена после рецензирования 28.11.2025; принята к публикации 15.12.2025.

The article was submitted 06.10.2025; approved after reviewing 28.11.2025; accepted for publication 15.12.2025.