

## ИНТРАЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ ИНЪЕКЦИЯ СПЕРМЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА (ОБЗОР)

**В. Ю. Ткачев, Т. В. Зубова, В. А. Плешков**

Данный обзор посвящен проблеме низкой эффективности интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ) у крупного рогатого скота, а также возможным путям ее решения и перспективным направлениям исследований. Рассмотрены особенности применения ИКСИ у крупного рогатого скота, анализируется эффективность данного метода, а также причины неудач и недавние научные разработки в этой области. Стоит отметить, что ИКСИ представляет собой метод *in vitro*, при котором один сперматозоид микроинъецируется в цитоплазму созревшего ооцита. Интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов основана на микроинъекции спермы в созревший ооцит. Хотя у животных эффективность этой процедуры низка у крупного рогатого скота, в основном это происходит из-за неудачной активации ооцитов после микроинъекции спермы. Повышение эффективности ИКСИ крупного рогатого скота пойдет на пользу животноводству за счет эффективного использования спермы элитных быков-производителей в самом раннем возрасте, а также позволит решить проблему производства сактированных эмбрионов *in vitro*. ИКСИ является очень надежной и эффективной репродуктивной техникой. Улучшенное оплодотворение сперматозоидами и гаметам различного качества, отсортированными по полу, является преимуществом ИКСИ перед другими репродуктивными методами. Кроме того, использование в переносе генов делает ее более ценной. На сегодняшний день методика ИКСИ мало эффективна у крупного рогатого скота из-за трудностей в деконденсации ядер спермиев, функционировании центра организации микротрубочек и активации ооцитов. Свой вклад вносят и анатомические особенности бычьей спермы. Однако различные агенты для предварительной обработки спермы и активаторы ооцитов улучшили результат ИКСИ у крупного рогатого скота.

*Ключевые слова:* *in vitro*, крупный рогатый скот, ИКСИ, ооцит, сперматозоид, эмбрион.

Российская животноводческая промышленность находится в авангарде повышения продуктивности животных и ежегодно вносит миллиарды рублей в нашу национальную экономику [6]. Обеспечение продуктами питания населения неизменно являлось основной задачей государства, т. к. это затрагивает все стороны экономики и социальной политики. Именно эта проблема легла в основу новой Доктрины продовольственной безопасности России, утвержденной Указом Президента Российской Федерации от 21 января 2020 года [20]. Поэтому даже незначительное увеличение репродуктивной способности крупного рогатого скота повышает продуктивность, повышение эффективности репродуктивных технологий приносит немедленную и существенную выгоду [11, 24, 28].

Производство криоконсервированной спермы от элитных быков (тестирование потомства на основе молочной продуктивности их дочерей) и ее использование для искусствен-

ного осеменения практикуется во всем мире для распространения лучшей генетики и повышения продуктивности животных. Учеными Всероссийского научно-исследовательского института племенного дела проведен анализ племенных качеств голштинских быков североамериканской селекции, спермопродукция которых была ввезена на территорию Российской Федерации в 2018 году. При этом дана оценка генетического разнообразия ввозимого материала и обозначены проблемы его использования на отечественных стадах [2]. В последнее время в животноводстве произошли революционные изменения благодаря геномным инструментам. Теперь возможен ранний отбор лучших быков и широкое распространение их генетики. Благодаря использованию репродуктивных технологий сокращается регенерационный интервал с 5 лет до испытания потомства, что значительно повышает эффективность генетической селекции быков [19, 21, 26].



Результаты исследования возрастной динамики спермопродукции голштинских быков показали, что наибольшие показатели достигаются к 4–5 годам жизни. Это объясняется увеличением массы семенников и общей живой массы производителей. Независимо от породы, максимальный объем эякулята быков отмечается летом, а минимальный – зимой. Сезон года не оказывает значительного влияния на концентрацию сперматозоидов, однако зимой наблюдается снижение их подвижности [10].

Несмотря на явные преимущества, сбор спермы у быков может столкнуться с некоторыми проблемами.

В период перипубертата у производителей происходит снижение качества спермы, что снижает ее пригодность для использования в процессе замораживания и искусственного осеменения. В результате количество сперматозоидов оптимального качества сокращается, ограничивая возможности производства замороженной спермы и искусственного осеменения. [14, 15, 17].

Е.М. Murphy (2018) обосновал данные за 4-летний период ( $n = 8\,983$  эякулята;  $n = 176$  быков голштино-фризской породы в возрасте от 9 месяцев до 8 лет). Быки в возрасте до 1 года имели самые низкие показатели продукции спермы и подвижности сперматозоидов по всем оцениваемым параметрам по сравнению с быками старше 1 года ( $P < 0,01$ ). Первые эякуляты имели большую выработку спермы и более высокие значения подвижности до замораживания, чем вторые последовательные эякуляты ( $P < 0,01$ ), но несмотря на это, не было никакой разницы в подвижности после оттаивания. При последующем сборе эякулята у быков в возрасте до 1 года продукция спермы и подвижность сперматозоидов не отличались от таковых у взрослых быков. Сперма, собранная зимой, была самой плохой с точки зрения концентрации сперматозоидов и TSN, но лучшей с точки зрения подвижности после оттаивания ( $P < 0,01$ ) [46].

Для решения данной проблемы часто используют процедуру искусственного оплодотворения – экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), а также культивирование эмбрионов (IVC) и интрацитоплазматическую инъекцию сперматозоидов (ИКСИ). Для успешного проведения ЭКО необходимо минимальное количество морфологически нормальных и функционально компетентных сперматозоидов [4, 9, 27].

Как показывают исследования, при воздействии физических факторов на сперму быков-производителей перед процедурами капацитации в технологиях *in vitro* улучшаются морфологические показатели спермопродукции: процент общей активности, число спермиев с прямолинейно-поступательным движением, уменьшается их количество с аномалиями развития в процессе созревания, что значительно увеличивает оплодотворяющую способность и переживаемость вне организма [8, 22, 30].

Таким образом, ИКСИ может быть приемлемым вариантом для результативного применения спермопродукции лучшего качества (при получении от молодых бычков) или разделенной по полу.

Хотя гаметы вносят вклад в генетическую изменчивость, современные методы геномной селекции позволяют осуществлять отбор гамет на основе генетического разнообразия. Таким образом, изменение генетического отбора от высшего животного к высшей гамете внутри индивидуума уже становится реальностью. Важно отметить, что существует программное обеспечение, которое может точно идентифицировать гаметическую изменчивость, делая процесс геномной селекции еще более эффективным. Все это делает нашу способность управлять генетической изменчивостью более точной и перспективной [3, 9, 16]. Достижения в области селекции гамет будут стимулом для вспомогательных репродуктивных технологий, таких как ИКСИ, для эффективного использования отобранных гамет для производства эмбрионов.

**Цель обзора** – обобщение данных научной литературы о достижениях в области селекции гамет для вспомогательных репродуктивных технологий, таких как ИКСИ, для результативного применения отобранных гамет при производстве эмбрионов. Задача обзора: сбор информации о состоянии вопроса; обзор литературы из разных стран; систематизация и сравнение информации из различных источников; обзор тенденций в развитии; выделение новых и перспективных направлений исследований.

### Материал и методы

Поиск источников проводили в библиографических базах данных, в научных электронных библиотеках с поисковыми системами: Web of Science (<http://www.webofscience.com>);

Scopus (<https://www.scopus.com>); eLIBRARY.RU (<https://www.elibrary.ru>); Springer (<https://www.springer.com>); Ecdybase (<https://ecdybase.org>); Wiley Online Library (<https://onlinelibrary.wiley.com>); Crossref (<https://search.crossref.org>); Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>); ЦНСХБ (<http://www.cnsheb.ru>).

В качестве источников литературы были приняты научные статьи на английском и русском языках (опубликованные на май 2022 г.).

Данный обзор посвящен использованию метода ИКСИ (интрацитоплазматическая спермино инъекция) у крупного рогатого скота с акцентом на его применение, эффективность, причины возможных неудач, а также недавние разработки и будущие направления исследований в этой области. Особое внимание будет уделено обработке спермы и ее влиянию на успех ИКСИ у крупного рогатого скота.

Метод ИКСИ является инновационным подходом, в рамках которого один сперматозоид микроинъекцируется в цитоплазму зрелой яйцеклетки. Этот метод широко используется для преодоления бесплодия как у человека, так и у домашних животных.

Однако помимо положительных результатов, возможны и неудачи. Поэтому в данном обзоре будет рассмотрено, какие факторы могут повлиять на эффективность метода ИКСИ у крупного рогатого скота.

Также будут представлены последние достижения в области разработки новых подходов и технологий, которые позволяют улучшить процедуру ИКСИ и повысить ее результативность.

Наконец, будет рассмотрено, какие будущие направления исследований в области ИКСИ могут существенно расширить наши знания о методе и его применении у крупного рогатого скота [1, 12, 18].

Используя сперму и ооциты хомяка, а также произведенные мужским про-нуклеусом [1, 12, 18], была реализована технология ИКСИ. Впервые ее применили в отношении крупного рогатого скота в 1993 году, и результатом стало развитие эмбриона до стадии бластоцисты, а затем его перенос в суррогатную мать и рождение жизнеспособного потомства. После этого были зафиксированы случаи успешного рождения живых телят. Кроме того, полностью расширенные бластоцисты, полученные с помощью ИКСИ, имеют выживаемость и качество, аналогичные бластоцистам, полученным с помощью

ЭКО, после медленного замораживания или витрификации [7, 16, 49].

Ранее ИКСИ применяли как крайнюю меру при неудачном ЭКО. Жизнеспособные эмбрионы получали из различных типов сперматогонных клеток, например, сперматид и спермы, полученную из культуры вторичных сперматоцитов *in vitro* [34]. Для ИКСИ подходят криоконсервированные ооциты, так как это улучшает формирование пронуклеусов, и скорость расщепления по сравнению с ЭКО замороженно-оттаянных ооцитов [45].

Следовательно, с помощью ИКСИ могут быть эффективно получены *in vitro* эмбрионы крупного рогатого скота из гамет различного качества (скорость образования бластоцист в ооцитах хорошего и плохого качества составляет 23,3% и 11,1% соответственно) [42].

С помощью технологии *in vitro* возможна сортировка спермы по полу, что позволяет получать молочных телок и быков мясного направления. Несмотря на определенные трудности, это значительно повышает продуктивность крупного рогатого скота, в том числе распространение генетики от выдающихся представителей пород [41]. Благодаря доступности замороженной бычьей спермы, отсортированной по полу, увеличивается использование экстракорпорального оплодотворения в программах разведения крупного рогатого скота. Однако важно учитывать, что эмбрионы, полученные таким способом, требуют особого внимания и заботы.

Сперматозоиды, отсортированные по полу, обладают низкой способностью к развитию, а в результате таких отборов полученные беременности имеют невысокий показатель успешных родов [51].

Джо и др. (2014) сообщили, что ИКСИ сперматозоидов, отсортированных по полу (24,7%), дает больше эмбрионов, чем ЭКО (2,7%), отсортированных по полу сперматозоидов, что имеет ключевое значение для получения сексированных эмбрионов [37].

ИКСИ – эффективный метод получения трансгенных эмбрионов, основанный на опосредованном переносе генов спермой. Оплодотворение ооцита происходит при внесении экзогенной ДНК в сперму, что позволяет получить трансгенные эмбрионы [47]. В сельскохозяйственном производстве ИКСИ применяется для создания животных, производящих рекомбинантный белок в молоке, или для выращивания



ния свиней с органами, предназначенными для трансплантации [31]. Интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида является одним из способов опосредованного переноса генов.

Технология ICSI-MGT обладает значительными преимуществами перед пронуuclearной микроинъекцией. Она позволяет избежать проблемы низкой трансгенной эффективности и импринтинга по умолчанию, которые часто возникают при использовании переноса ядер соматических клеток (SCNT) [30, 33].

Производство бластоцист крупного рогатого скота с помощью ICSI-MGT было сравнимо или лучше, чем SCNT или пронуuclearная микроинъекция. Высокая эмбриопродукция была достигнута в ICSI-MGT сельскохозяйственных животных путем химической активации ооцитов с использованием иономицина и 6-диметиламинопурина (DMAP). Кроме того, физическое или химическое повреждение оболочки сперматозоидов перед микроинъекцией улучшало результаты ICSI-MGT [38, 40].

ИКСИ крупного рогатого скота также использовалась в качестве системы гетерологичного анализа для оценки оплодотворяющей способности спермы человека и функции центросом человека. Эти анализы привели к идентификации роли мужских пронуuclearов в синхронизации развития женских пронуuclearов [46, 50].

Успешность ИКСИ у крупного рогатого скота на сегодняшний день составляет 14%, что ниже, чем у других домашних животных (лошади: 21%, козы: 28% и свиньи: 18%) [47]. Однако поскольку ИКСИ обладает огромным потенциалом для увеличения генетической селекции и продуктивности животных, продолжаются исследования по повышению ее эффективности.

Исследование R.D. Wilson, K.A. Weigel, P.M. Fricke (2005) демонстрирует, что использование выбракованных коров в качестве доноров для производства эмбрионов *in vitro*, в сочетании с сортированной по полу спермой, может стать эффективным инструментом в программе разведения молочного скота. Однако для достижения наилучших результатов необходимо улучшить показатели оплодотворяемости [41].

Основными причинами неудач ИКСИ у крупного рогатого скота считается неспособность сперматозоидов к ядерной деконденсации и образованию пронуuclearов, неправильное функционирование центра организации микро-

трубочек и неспособность вызвать колебания кальция, требующиеся для активации ооцитов. Созревшие *in vitro* ооциты крупного рогатого скота не способны обрабатывать сперму с интактной акросомой или сперму, не подвергшуюся капацитации [39]. Инъекция отдельных отсортированных головок сперматозоидов из созревших *in vitro* ооцитов (культивируемых в течение 24 часов) приводила к дроблению 46,6% и развитию бластоцист 6,9%. Использование метода переноса 48 бластоцист эмбрионов (на 7–8 день) к одной реципиентке привело к беременности в 20,8% случаев, а также к 20,8% нормальной производительности живого потомства. Из 10 родившихся телят, 8 были мужского пола, а 2 – женского, что соответствует 80% точности предварительного выбора пола [37]. Как эксперты, авторы могут подтвердить, что эти результаты являются значимыми для дальнейшего развития в области репродуктивной медицины [37]. Сообщалось, что акросомальные ферменты деформируют и лизируют ооциты. Кроме того, когда сперму различных видов (хотья, крупного рогатого скота, свиньи, человека и мыши) микроинъекцировали в ооциты мыши, порядок, в котором они цитолизуют ооцит, коррелировал с объемом акросомы. Инъекции трипсина и гиалуронидазы (которые имитировали действие интактной акросомы сперматозоидов в нормальный оплодотворенный ооцит мыши) нарушали пре- и постимплантационное развитие [49]. Однако удаление мембран сперматозоидов может улучшить формирование мужских пронуuclearов и сделать полученный из спермы фактор активации ооцитов (PLC zeta) более доступным для цитоплазмы ооцитов. Нарушение высвобождения или активация фактора спермы может привести к нарушению осцилляции кальция [35].

Повышенная концентрация кальция в цитозоле внутри клетки приводит к возникновению осцилляций кальция путем активации кальций-индуцированного высвобождения кальция (CICR), что в свою очередь стимулирует освобождение кальция из внутренних резервуаров. Колебания уровня кальция поддерживаются переходными процессами, которые необходимы для пополнения запасов кальция и облегчения следующего спонтанного разряда в зависимости от времени. Увеличение внутриклеточной концентрации кальция, опосредованное IP<sub>3</sub>, является обратной связью для ингибирования.

Для дальнейшего освобождения кальция из внутренних резервуаров необходимо инактивировать рецепторы кальциевых каналов. Это позволяет кальцию вернуться во внутренние хранилища, что в свою очередь снижает уровень кальция и устраняет ингибирование обратной связи на IP3-чувствительных кальциевых каналах. Колебания уровня кальция поддерживаются благодаря периодическому высвобождению кальция из IP3-чувствительного кальциевого пула [33, 43].

Таким образом, осцилляция кальция способствует активации ооцитов, проявляющейся возобновлением мейоза и образованием мужских и женских пронуклеусов.

Отчет об использовании транскрипционной регионализации генов развития в ооцитах крупного рогатого скота и предпочтительной точке входа сперматозоидов во время ЭКО подразумевает, что ооциты могут быть полярными. Следовательно, точка входа сперматозоидов во время ИКСИ может иметь важное значение для развития эмбриона [36]. Условия развития культуры для улучшения плазматической среды и имитирующие молекулярные изменения в сперме, связанные с физиологической капациацией и акросомной реакцией за счет соответствующей предварительной обработки спермы, может повысить эффективность ИКСИ у крупного рогатого скота [39].

### Выводы

Таким образом, ИКСИ является очень надежной и эффективной репродуктивной техникой. Улучшенное оплодотворение сперматозоидами и гаметамии различного качества, отсортированными по полу, является преимуществом ИКСИ перед другими репродуктивными методами. Кроме того, использование в переносе генов делает ее более ценной. На сегодняшний день методика ИКСИ мало эффективна у крупного рогатого скота из-за трудностей в деконденсации ядер спермиев, функционировании центра организации микротрубочек и активации ооцитов. Свой вклад вносят и анатомические особенности бычьей спермы. Однако различные агенты для предварительной обработки спермы и активаторы ооцитов улучшили результат ИКСИ у крупного рогатого скота.

### Список литературы

1. Амирова, А. А. Факторы, влияющие на исходы ЭКО (обзор литературы) / А. А. Амирова,

Т. А. Назаренко, Н. Г. Мишиева // Проблемы репродукции. – 2010. – Т. 16. – № 1. – С. 68–74.

2. Анализ племенных качеств голштинских быков, спермопродукция которых ввезена на территорию Российской Федерации в 2018 году / И. М. Дунин, С. Е. Тяпугин, Н. В. Семенова [и др.] // Зоотехния. – 2020. – № 2. – С. 8–11. – DOI: 10.25708/ZT.2020.72.41.003.

3. Бригида, А. В. Генетический аспект применения деми-эмбрионов крупного рогатого скота / А. В. Бригида, О. А. Скачкова // Ветеринария и кормление. – 2020. – № 6. – С. 4–6. – DOI: 10.30917/АТТ-ВК-1814-9588-2020-6-1.

4. Влияние качественных показателей сперматозоидов на оплодотворяемость ооцитов в условиях *in vitro* / В. А. Плешков, О. В. Смолоская, Т. В. Зубова [и др.] // Молочнохозяйственный вестник. – 2021. – № 4 (44). – С. 62–76. – DOI: 10.52231/2225-4269\_2021\_4\_62.

5. Глубокозамороженное семя быков-производителей – надежный компонент в сохранении генофонда скота / А. Х. Абдурасулов, К. Жумаканов, Ы. Ж. Жолдошов [и др.] // Вестник Ошского государственного университета. – 2021. – Т. 2. – № 2. – С. 5–12.

6. Грудкина, Т. И. Тенденции реализации, мейнстримы решения проблемных аспектов и роста эффективности молочного агробизнеса / Т. И. Грудкина // Вестник аграрной науки. – 2021. – № 6 (93). – С. 109–118. – DOI: 10.17238/issn2587-666X.2021.6.109.

7. Дозревание ооцитов *in vitro*. Показания, техника и результаты / А. Ellenbogen, Е. Shalom-Paz, М. Б. Аншина, А. А. Смирнова // Проблемы репродукции. – 2015. – Т. 21. – № 1. – С. 32–40.

8. Жизнеспособность эмбрионов крупного рогатого скота после физических методов обработки половых клеток в технологии *in vitro* / И. П. Шейко, И. В. Кириллова, А. И. Ганджа [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси. – 2020. – Т. 55. – № 1. – С. 219–227.

9. Зиновьева, Н. А. Вспомогательные репродуктивные технологии: история становления и роль в развитии генетических технологий в скотоводстве (обзор) / Н. А. Зиновьева, С. В. Позябин, Р. Ю. Чинаров // Сельскохозяйственная биология. – 2020. – Т. 55. – № 2. – С. 225–242. – DOI: 10.15389/agrobiology.2020.2.225rus.

10. Количество спермиев в эякуляте у быков-производителей в возрасте 6–7 лет в зависимости от сезона года / А. И. Абилов, И. Н. Янчуков, И. С. Турбина [и др.] // Ветеринарный фармако-



логический вестник. – 2019. – № 1 (6). – С. 103–110. – DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.1.103.

11. Комлацкий, В. И. Особенности улучшения воспроизводства стада коров / В. И. Комлацкий, О. Н. Еременко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2021. – № 167. – С. 75–83. – DOI: 10.21515/1990-4665-167-005.

12. Лугин, И. А. Актуальность методов оплодотворения *in vitro* в связи с проблемами бесплодия / И. А. Лугин, Э. Ш. Саранаева // Синергия Наук. – 2018. – № 19. – С. 886–901.

13. Нарышкина, Е. Н. Вариабельность показателя оплодотворяющей способности семени быков-производителей голштинской породы в племенных и товарных стадах / Е. Н. Нарышкина // Пермский аграрный вестник. – 2021. – № 4 (36). – С. 124–133. – DOI: 10.47737/2307-2873\_2021\_36\_124.

14. Нарышкина, Е. Н. Оценка генетической и геномной вариабельности признаков фертильности быков-производителей на основе локусов в геноме, ассоциированных с давлением отбора (обзор) / Е. Н. Нарышкина, А. А. Сермягин // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34. – № 9. – С. 64–72. – DOI: 10.24411/0235-2451-2020-10912.

15. Нарышкина, Е. Н. Селекционно-генетические параметры признаков собственной продуктивности быков-производителей в разные возрастные периоды / Е. Н. Нарышкина, А. Н. Ермилов // Аграрный научный журнал. – 2022. – № 2. – С. 44–49. – DOI: 10.28983/asj.y2022i2pp44-49.

16. Никитин, Г. С. Современные подходы при получении и криоконсервации эмбрионов крупного рогатого скота *in vitro* / Г. С. Никитин // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 3. – С. 192–205. – DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.192.

17. Приходько, В. В. Показатели качества спермопродукции быков-производителей в зависимости от возраста / В. В. Приходько, А. С. Мошанец // Научный журнал молодых ученых. – 2020. – № 1 (18). – С. 27–31.

18. Различные методики оплодотворения ооцитов и их взаимосвязь с результативностью программ вспомогательных репродуктивных технологий при лечении бесплодия / А. Х. Дударова, В. Ю. Смольникова, Н. П. Макарова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 7. – С. 96–103. – DOI: 10.18565/aig.2017.7.96-103.

19. Распространение рецессивных генетических нарушений в уральской популяции крупного рогатого скота / М. В. Модоров, Н. А. Мартынов, И. А. Шкуратова [и др.] // Генетика. – 2022. – Т. 58. – № 4. – С. 429–437. – DOI: 10.31857/S0016675822040105.

20. Роднина, Н. В. Доктрина продовольственной безопасности: региональный аспект / Н. В. Роднина. – Якутск : Изд. центр «Академия», 2021. – 106 с.

21. Скачкова, О. А. Влияние геномной селекции на улучшение здоровья у высокоудойных коров / О. А. Скачкова, А. В. Бригида // Ветеринария и кормление. – 2021. – № 6. – С. 48–50. – DOI: 10.30917/АГТ-ВК-1814-9588-2021-6-12.

22. Скачкова, О. А. Селекция на повышение молочной продуктивности у крупного рогатого скота: значение генетических маркеров-предикторов / О. А. Скачкова, А. В. Бригида // Ветеринария и кормление. – 2022. – № 2. – С. 47–49. – DOI: 10.30917/АГТ-ВК-1814-9588-2022-2-13.

23. Сметанина, И. Г. Исследования по разработке культуральных систем для созревания ооцитов крупного рогатого скота в условиях *in vitro*: состояние и перспективы / И. Г. Сметанина, А. С. Кривохарченко // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2017. – № 1. – С. 28–53.

24. Состояние воспроизводства поголовья молочного скота в Российской Федерации / Е. Е. Тяпугин, Е. В. Герасимова, Н. В. Семенова [и др.] // Зоотехния. – 2023. – № 1. – С. 33–35. – DOI: 10.25708/ZT.2022.47.48.009.

25. Спермопродукция быков-производителей молочных пород в зависимости от возраста и породы / М. И. Дунин, Е. А. Пыжова, А. И. Абилов, Ф. Ш. Зарипов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 1. – С. 122–125. – DOI: 10.17238/issn2072-6023.2020.1.122.

26. Стрекозов, Н. И. Оценка быков по качеству потомства и геному – основа успеха разведения пород молочного скота / Н. И. Стрекозов // Молочное и мясное скотоводство. – 2018. – № 6. – С. 10–12.

27. Федотов, С. В. Роль репродуктивных биотехнологий в развитии скотоводства / С. В. Федотов, Ф. Н. Насибов, А. В. Панкратова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 10 (108). – С. 072–074.

28. Чинаров, В. И. Потенциал развития скотоводства в России / В. И. Чинаров // Экономика сельскохозяйственных и перерабатывающих

- предприятий. – 2021. – № 11. – С. 30–34. – DOI: 10.31442/0235-2494-2021-0-11-30-34.
29. Шаркаева, Г. А. Оценка импортных быков-производителей по качеству потомства, завезенных с геномной оценкой в Российскую Федерацию / Г. А. Шаркаева // Теория и практика современной науки. – 2017. – № 2 (20). – С. 675–679.
30. A software package for calculating individual gametic diversity / D. J. De Abreu Santos, J. B. Cole, G. E. Liu [et al.] // BMC Bioinf. – 2020. – № 21. – P. 100.
31. A unique method to produce transgenic embryos in ovine, porcine, feline, bovine and equine species / F. Pereyra-Bonnet, R. Fernandez-Martin, R. A. Olivera [et al.] // Reprod. Fertil. Dev. – 2008. – Vol. 20. – P. 741–749.
32. Acceleration of genetic gain in cattle by reduction of generation interval / P. Kasinathan, H. Wei, T. Xiang [et al.] // Sci. Rep. – 2015. – № 5. – P. 8674.
33. Berridge, J. M. Cytosolic calcium oscillators / J. M. Berridge, A. Galione // FASEB J. – 1988. – № 2. – P. 3074–3082.
34. Blastocyst formation following intracytoplasmic injection of in-vitro derived sperm-tids into bovine oocytes / K. Goto, A. Kinoshita, Y. Nakanishi, K. Ogawa // Hum. Reprod. – 1996. – № 11. – P. 824–829.
35. Defective sperm head decondensation undermines the success of ICSI in the bovine / L. Águila, R. Felmer, M. E. Arias [et al.] // Reproduction. – 2017. – Vol. 154. – P. 307–318.
36. Evidence of oocyte polarity in bovine; implications for intracytoplasmic sperm injection and somatic cell nuclear transfer / S. M. Hosseini, F. Moulavi, N. TanhaieVash [et al.] // Cell J. – 2017. – № 19. – P. 482–491.
37. Gender preselection in cattle with intracytoplasmically injected, flow cytometrically sorted sperm heads / K. Hamano, X. Li, X. Qian [et al.] // Biol. Reprod. – 1999. – Vol. 60. – P. 1194–1197.
38. High rates of bovine blastocyst development after ICSI-mediated gene transfer assisted by chemical activation / R. J. Bevacqua, F. Pereyra-Bonnet, R. Fernandez-Martin, D. F. Salamone // Theriogenology. – 2010. – Vol. 74. – P. 922–931.
39. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score / I. Aguilar, I. Misztal, D. L. Johnson [et al.] // J. Dairy Sci. – 2010. – Vol. 93. – P. 743–752.
40. Improved expression of green fluorescent protein in cattle embryos produced by ICSI-mediated gene transfer with spermatozoa treated with streptolysin-O / E. Sánchez-Villalba, M. Elena, P. Loren [et al.] // Anim. Reprod. Sci. – 2018. – Vol. 196. – P. 130–137.
41. In vitro production of holstein embryos using sex-sorted sperm and oocytes from selected cull cows / R. D. Wilson, K. A. Weigel, P. M. Fricke [et al.] // J. Dairy Sci. – 2005. – № 88. – P. 776–782.
42. Intracytoplasmic sperm injection improves in vitro embryo production from poor quality bovine oocytes / L. U. Ohlweiler, D. S. Brum, F. G. Leivas [et al.] // Theriogenology. – 2013. – Vol. 79. – P. 778–783.
43. Intracytoplasmic sperm injection in the bovine induces abnormal [Ca<sup>2+</sup>] i responses and oocyte activation / C. Malcuit, M. Maserati, Y. Takahashi [et al.] // Reprod. Fertil. Dev. – 2006. – Vol. 18. – P. 39–51.
44. Kumar, V. Genetic and breeding aspects of lactation / V. Kumar // Trends in Advance Veterinary Genetics. – 1st ed. – London, UK, 2017. – P. 13.
45. Lee, K. Fertilization and development in vitro of bovine oocytes following intracytoplasmic injection of heat-dried sperm heads / K. Lee, K. Niwa // Biol. Reprod. – 2006. – Vol. 74. – P. 146–152.
46. Murphy, E. M. Influence of bull age, ejaculate number, and season of collection on semen production and sperm motility parameters in Holstein Friesian bulls in a commercial artificial insemination centre / E. M., Murphy, A. K. Kelly, C. O’Meara [et al.] // Journal of Animal Science. – 2018. – Vol. 96. – P. 2408–2418. – DOI: 10.1093/jas/sky130.
47. Salamone, D. F. Intracytoplasmic sperm injection in domestic and wild mammals / D. F. Salamone, N. G. Canel, M. B. Rodríguez // Reproduction. – 2017. – Vol. 154. – P. 111–124.
48. Uehara, T. Microsurgical injection of spermatozoa into hamster eggs with subsequent transformation of sperm nuclei into male pronuclei / T. Uehara, R. Yanagimachi // Biol. Reprod. – 1976. – № 15. – P. 467–470.
49. Vitrification of ICSI- and IVF-derived bovine blastocysts by minimum volume cooling procedure: Effect of developmental stage and age Abdalla / H. Shimoda, M. Hara, H. Morita, H. M. Kuwayama // Theriogenology. – 2010. – Vol. 74. P. 1028–1035.



50. Wei, H. Fertilisability of ovine, bovine or minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) spermatozoa intracytoplasmically injected into bovine oocytes / H. Wei, Y. Fukui // *Zygote*. – 2000. – № 8. – P. 267–274.

51. Wilson, R. D. In vitro production of bovine embryos using sex-sorted sperm / R. D. Wilson, P. M. Fricke, M. L. Leibfried-rutledge // *Theriogenology*. – 2006. – № 65. –P. 1007–1015.

---

**Ткачев Виктор Юрьевич**, ветеринарный врач, репродуктолог, аспирант, СГЦ АО Ваганово.  
E-mail: donwitj@yandex.ru.

**Зубова Татьяна Владимировна**, д-р биол. наук, профессор, Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия.  
E-mail: suta54@mail.ru.

**Плешков Владимир Александрович**, канд. с.-х. наук, доцент, доцент кафедры ветеринарии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет».  
E-mail: 6110699@mail.ru.

\* \* \*