

СЕКSOВAНА СПЕРМА БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ У ШТУЧНОМУ ОСІМЕНІННІ КОРІВ

В. Ю. Стефаник¹, д. вет. н., професор,
Є. Є. Костишин¹, к. вет. н.,
Т. І. Стецько², к. с.-г. н.,
І. Є. Атаманюк², старший науковий співробітник,
О. І. Чайковська², к. б. н., с. н. с.

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С. З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

²Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок,
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті наведені результати досліджень щодо використання у відтворенні ВРХ сперми, розділеної за статтю. Відомо, що збільшувати чисельність тварин на фермі, та ще й генетично якісних, можна у кілька способів: закупівля молодняку або збільшення кількості отриманих телиць власним відтворенням. Перший шлях швидкий, особливо за рахунок імпорту тварин із країн із розвиненим молочним тваринництвом, але він дорогий. Другий шлях набагато дешевший, хоч і потребує часу. Найдешевше вирішити ці питання можна, застосовуючи сексовану за статтю сперму та змінивши систему управління стадом. Сьогодні практично всі виробники молока у світі застосовують технологію осіменіння власного поголів'я спермою бугаїв-плідників, сексованою за статтю. В Україні цей метод використовують з 2007 року.

За останнє десятиліття відбулася революція в скотарстві, а саме – комерційне використання сексованої сперми для штучного осіменіння. Видатним інженерним досягненням в репродуктивній біотехнології стало використання проточного цитометра для отримання сперми з визначеною статтю. Сучасні проточні цитометри можуть сортувати за статтю понад 30000 окремих спермійів щосекунди на Х-спермії, Y-спермії. Високий відсоток телиць, отриманих від сперми з визначенням статі, сприятиме зростанню та розширенню молочного стада, покращить його продуктивні характеристики, генетичний потенціал та біобезпеку. Унікальна технологія широко та швидко впроваджується виробниками молочної продукції для збільшення частки народжених телиць та отримання пов'язаних з цим переваг. Використання сперми з визначеною статтю підвищує генетичну цінність молочного стада, і рівень його продуктивності, що є критичним для молочної промисловості. Поступове вдосконалення методу сортування сперми за статтю та її автоматизація поступово вирішує проблему фертильності спермійів, відсортованих за статтю.

Ключові слова: ВЕЛИКА РОГАТА ХУДОБА, ТЕЛИЦІ, СЕКSOВAНА СПЕРМА, СПЕРМІЇ, ПРОТОЧНА ЦИТОМЕТРІЯ, ФЕРТИЛЬНІСТЬ.

SEX-SORTED SEMEN OF FERTILIZING BULLS IN ARTIFICIAL INSEMINATION OF COWS

V. Stefanyk¹, Ye. Kostyshyn¹, T. Stetsko², I. Atamanyuk², O. Chiakovska²

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv,
50, Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

²State Scientific-Research Control Institute of Veterenary Medicinal Products and Feed Additives
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

The article presents the results of research on the use of sex-separated semen in cattle reproduction. It is known that there are several ways to increase the number of animals on a farm, and even genetically high-quality ones: purchasing young animals or increasing the number of heifers obtained through your own reproduction. The first way is fast, especially by importing animals from countries with developed dairy farming, but expensive. The second way is much cheaper, although it takes time. The cheapest way to solve these issues is to use sex-separated semen and change the herd management system. Today, almost all milk producers in the world use the technology of insemination of their own livestock with sex-separated semen from breeding bulls. This method has been used in Ukraine since 2007.

Over the past decade, a revolution has occurred in cattle breeding, namely the commercial use of sex-separated semen for artificial insemination. An outstanding engineering achievement in reproductive biotechnology was the use of a flow cytometer to obtain sex-determined sperm. Modern flow cytometers can sex-sort over 30,000 individual sperm per second into X-sperm, Y-sperm. A high percentage of heifers obtained from sex-determined sperm will contribute to the growth and expansion of the dairy herd, improve its productive characteristics, genetic potential and biosecurity. The unique technology is widely and rapidly implemented by dairy producers to increase the proportion of heifers born and obtain the associated benefits. The use of sex-determined sperm increases the genetic value of the dairy herd, and its level of productivity, which is critical for the dairy industry. Gradual improvement in the method of sex-sorting sperm and automation is gradually solving the problem of fertility of sex-sorted sperm.

Keywords: CATTLE, HEIFERS, SEX-SORTED SEMEN, SPERM, FLOW CYTOMETRY, FERTILITY.

Сексованою називають таку спермопродукцію, спермії в якій розділені за статтю. Тобто кожна спермодоза містить спермії-носії Х-хромосоми (при її використанні народжуються телиці) або Y-хромосоми (народжуються бугайці). У першому випадку спеціалісти галузі молочного скотарства вирішують питання отримання більшої кількості теличок для наступного ремонту стада, збільшення кількості корів у господарстві та маточного поголів'я для наступного продажу. У бугайцях найбільшу потребу відчуває галузь м'ясного скотарства, рентабельність якої на пряму залежить від кількості виробленого м'яса. Оскільки сексовану сперму для комерційного використання одержують лише від кращих плідників, використання такої сперми забезпечує за короткий час шляхом селекційно-племінної роботи підвищення продуктивності тварин та одержання вдвічі більше власного ремонтного поголів'я.

Чисельність поголів'я великої рогатої худоби продовжує зменшуватись, що зумовлює дефіцит молока та молочних продуктів для потреб населення. Однією з найбільших проблем, що спостерігають на підприємствах з розведення молочної худоби, є нездатність підтримувати розмір стада молочних корів. Збільшити чисельність тварин на фермі, та ще й генетично якісних, можна через закупівлю молодняку або збільшення кількості отриманих телиць власним відтворенням. Перший шлях швидкий, особливо за рахунок імпорту тварин із країн з

розвиненим молочним тваринництвом, але вельми дорогий. Другий шлях набагато дешевший, але більш тривалий. Виробники молочної продукції все частіше прагнуть якомога швидше наростити поголів'я корів, покращуючи генетичний потенціал стада з використанням сучасних репродуктивних технологій.

Біотехнологія відтворення тварин все активніше бере участь у вирішенні багатьох фундаментальних проблем, використовуючи концептуальні та методичні досягнення сучасної біологічної науки. Порівняно з природним заплідненням корів бугаєм-плідником, репродуктивні технології, такі як штучне запліднення, трансплантація ембріонів, застосування сперми з визначеною статтю, призвели до генетичного покращення молочної худоби (Vishwanath, 2003, Boneya, 2021).

Революційним досягненням у галузі відтворення худоби, яке селекціонери очікували вже давно, стало отримання сперми бугаїв, розділеної за статтю. У самок є дві Х-хромосоми (XX), а у самців – одна Х- та одна Y-хромосома (XY). Випадкове поєднання гамет під час запліднення визначає стать, і очікуване співвідношення статей у потомстві є приблизно 1:1. У 1980-х роках ХХ ст. були спроби відділити спермії, що містять Х-хромосоми, від тих, що містять Y-хромосоми. Однак, на той момент позитивних результатів не отримали. Визначення вмісту ДНК у спермі безперечно відкрило двері до технології визначення статі спермій (Seidel, 2007). У 1976 році вміст ДНК спермій у різних видах тварин, у тому числі, в спермі бугаїв, був оцінений за допомогою проточної цитометрії (Gledhill et al., 1976). Принцип проточної цитометрії базується на різниці у вмісті ДНК між сперміями Х та Y. Спермії, що містять Х-хромосоми, мають більше ДНК. Різниця у вмісті ДНК для більшості ссавців становить від 3 до 4,2 % (Johnson, 2000).

Як тільки стало можливим диференціювати спермії «Х» та «Y» на основі їхнього вмісту ДНК, розпочалася робота над удосконаленням проточного цитометру для отримання більш ефективних показників. Базова технологія розділення спермій за статтю була розроблена на початку 1980-х років у Ліверморській лабораторії Міністерства енергетики США в Каліфорнії з використанням процедур, що вимагали демембранізації спермій, що призводило до отримання нежиттєздатних спермій (Garner et al., 1983). З часом метод проточної цитометрії був вдосконалений для збереження живих та фертильних спермій після сортування. Ці дослідження очолював доктор Лоуренс Джонсон у Міністерстві сільського господарства США в Белтсвіллі, штат Меріленд (Johnson et al., 1989). Процедура була додатково вдосконалена завдяки зусиллям Університету штату Колорадо (США) та розроблені практичні рекомендації для використання в штучному осіменінні. Так, у 1986 році (Johnson & Pinkel, 1986) були розроблені перші модифікації проточного цитометру для розділення спермій. Завдяки цим модифікаціям та роботі зі сперміями шиншили, стало можливим розділити ядра спермій на «Х» та «Y» зі швидкістю 55 ядер/сек для кожної популяції, з чистотою 95 % (Johnson et al., 1987).

Наступним етапом став відбір життєздатних спермій, якими можна було б провести штучне осіменіння. У 1989 році (Johnson et al., 1989) провели перше тестування з використанням сексованої сперми на кроликах, яке привело до отримання популяцій спермій з хромосомою «Х» з чистотою 86 % та 81 % для спермій з хромосомою «Y». З самок, запліднених спермою з хромосомою «Х», 94 % потомства були самками; у випадку самок, запліднених спермою з хромосомою «Y», 81 % потомства були самцями. Ця робота продемонструвала ефективність методу розділення сперми за статтю за допомогою проточної цитометрії.

У 1992 році з'явилися повідомлення про перше потомство великої рогатої худоби, народжене від ембріонів, отриманих *in vitro* зі сперми з визначеною статтю, яка мала чистоту 79 % для спермій з хромосомою «Х» та 70 % - для спермій з хромосомою «Y». Стать ембріонів була визначена за допомогою ПЛР; аналіз показав, що 73 % були самками, а 69 % - самцями; не було статистично значущої різниці з результатами проточного цитометричного аналізу. У

цьому дослідженні було підтверджено, що сперма, визначена за статтю, продовжувала мати свою запліднюючу здатність та прийнятну чистоту; однак кількість відібраних спермій була ще надто низькою для використання у штучному осіменінні (Cran et al., 1993).

У 1996 році (Seidel et al., 1996) було проведено польове дослідження на голштинських телицях, яких запліднювали (глибоке запліднення, іпсилатерально до яєчника з більшим фолікулом) спермою визначеної статі (90 % чистоти, 1×10^5 спермій), охолодженої при 5 °C приблизно через 18 годин після забору сперми. Провели 22 запліднення, на 60-й день після яких у 11 самиць була встановлена тільність. Між 60 та 70 днями тільності була визначена стать плоду за допомогою ультразвукового дослідження; один з 11 плодів не мав передбачуваної статі.

У 1997 році було проведено дослідження з метою оцінки рівня вагітності телиць, які були синхронізовані та запліднені (глибоке запліднення, іпсилатерально до яєчника з більшим фолікулом) спермою з визначеною статтю ($1-2 \times 10^5$ сперматозоїдів/0,1 мл), охолодженої при 5 °C. 22 % з 67 запліднених телиць були тільними, а 82 % отриманого потомства були вибраної статі (Seidel et al., 1997). У 1999 році, було проведено дослідження з метою оцінки процесу заморожування сперми з визначеною статтю, у результаті якого отримали дещо нижчі результати, порівняно із звичайною спермою, з точки зору рухливості та цілісності акросом (Schenk et al., 1999).

Дослідницькому фонду Університету штату Колорадо (CSURF) Міністерством сільського господарства США (USDA) була надана ліцензія на комерціалізацію технології визначення статі спермій ссавців (Seidel et al., 1996). З видачею цієї ліцензії в 1996 році була створена компанія XY Inc., яка була результатом співпраці між CSURF, Cytomation Inc. (CO, США) та приватними інвесторами. Ця компанія придбала права на високошвидкісну проточну цитометрію та продавала її як цитометр MoFlow™ (CO, США) (Johnson & Pinkel, 1986; Johnson et al., 1987). За допомогою цього цитометра можна було проаналізувати майже 20000 спермій/сек, а до 6000 або більше спермій/сек з кожної популяції «X» або «Y» можна було сортувати з точністю 90 %. У 2003 році компанію Cytomation Inc. придбала данська біотехнологічна компанія Dako, і вона стала називатися Dako A/S; компанія продовжила виробляти цитометр для визначення статі спермій, який вони перейменували на MoFlow SX™ (Колорадо, США). Згодом підрозділ з виготовлення приладів для проточної цитометрії було придбано компанією Beckman Coulter, розташованою у Фуллертоні, Каліфорнія, США (Garner et al., 2008).

Зміни в розвитку технологій виробництва сексованої сперми відбулися, коли у 2004 році американська компанія Sexing Technologies (ST) отримала ліцензію з розділення сперми за статтю, вона є й основним патентовласником на спосіб отримання сексованої сперми у світі. Компанія почала створювати лабораторії із сортування сперми за статтю. На сьогоднішній день усі світові найбільші центри зі штучного осіменіння використовують технології цієї компанії для виробництва розділеної за статтю сперми від різних порід бугаїв як важливу і невід'ємну частину їх виробничого портфолію. Розділяють сперму за статтю лише від кращих бугаїв, які мають чудове походження і високу генетичну цінність за продуктивністю, екстер'єром, здоров'ям та відтворними якостями (Sokhatskyi, 2017).

Кілька методів використовувалися для сортування сперми до появи проточної цитометрії, такі як: ідентифікація H-Y антигену; градієнт альбуміну (Ericsson et al., 1973); вільнопотоковий електрофорез (Kaneko et al., 1984); виявлення статеві-специфічних білків (Blecher et al., 1999); відцентровий протитечийний розподіл спермій у водній двофазній системі (Ollero et al., 2000); за різницею в об'ємі між незабарвленими головками спермій, що несуть X- та Y-хромосоми (Van Munster, 2002); центрифугування в градієнті щільності. Усі ці методи є менш ефективними, ніж проточна цитометрія. Так, використання центрифугування сперми шкодить життєздатності спермій і викликає утворення активних форм кисню.

Процес сортування сперми за статтю за допомогою проточної цитометрії є надійним та ефективним методом розділення спермійів Х та Y, який широко використовується комерційно для великої рогатої худоби (Norman et al., 2010; Rath et al., 2013).

Принцип методу проточної цитометрії базується на тому, що спермії з Х-хромосомою (жіночі) містять на 3,8 відсотка більше ДНК, ніж спермії з Y-хромосомою (чоловічі) (Johnson, 2000). Перед сортуванням спермії фарбуються флуоресцентним барвником Hoechst-33342 (флуорохром [2-(4-етоксифеніл)-5-(4-метил-1 піперазиніл)-2,5-біс-1Н-бензімадазолу тригідрохлорид]), що зв'язує ДНК, а потім пропускаються через проточний цитометр у вигляді крапель, що містять один спермій. Спермії з Х-хромосомою світяться яскравіше, ніж спермії з Y-хромосомою. Забарвлений флуоресцентним барвником зразок інжектують до протокової кювети, де він проходить через сфокусований лазерний промінь. Залежно від інтенсивності флуоресценції, лазерний пристрій заряджає краплі негативним або позитивним зарядом. Проходячи через магнітне поле, краплі розподіляються на позитивно та негативно заряджені частинки й надходять у різні посудини. Пошкоджені, неправильно орієнтовані або незчитані спермії відкидаються в окремий посуд. Приблизно 25 % кожного еякуляту сортується за точністю Х, а ще 25 % – за точністю Y. Точність сортування можна регулювати, але більшість компаній сортують з точністю 90 %. Після сортування концентрація спермійів у судинах для збору розбавляється. Відсортовані спермії необхідно концентрувати центрифугуванням, що призводить до додаткової втрати кількості спермійів (Seidel, 2014). За допомогою проточної швидкісної лазерної цитометрії та використання флуоресцентного барвника можна відокремити фракції, що містять до 92 % статевих клітин з Х- або Y- хромосомою (Shalini, 2025).

Основним обмеженням проточної цитометрії є повільна швидкість. Хоча швидкість сортування надзвичайно висока, 30 000 спермійів/сек, тривалість виробництва однієї пасти спермодози все ще дуже велика. Загальний вихід відсортованих спермійів обмежений приблизно 14 пастами, відсортованими для кожної статі за годину та наповненими 2 мільйонами спермійів на пасту (Seidel, 2014). У багатьох місцях з проточними цитометрами для сортування сперми за статтю машини працюють цілодобово. Вихід пасти зі спермою з визначеною статтю становить близько 200 на збір. У деяких випадках збір може бути розділений на сексовану та звичайну сперму. Таким чином, для сортування кількості спермійів для типової дози для штучного осіменіння знадобиться 1-2 години.

Іншим недоліком методу є втрата великої кількості спермійів. Мертві та пошкоджені спермії викидаються, до того ж потужність цитометру витрачається на оцінку цих спермійів. Мертві спермії неможливо зорієнтувати для сортування або неможливо точно ідентифікувати як такі, що мають Х або Y хромосому, і вони проходять без сортування, і ці два фактори можуть призвести до втрати понад 75 % спермійів (Seidel & Garner, 2002; Balzani et al., 2021). Серед решти 25 % відсортованих спермійів лише половина має бажану стать, отже, лише 10 % - 15 % початкової популяції спермійів, що потрапляють у проточний цитометр, витягуються як придатна для комерційного використання сперма з визначеною статтю (Seidel & Garner, 2002). Через втрату спермійів, сперма з визначеною статтю дорожча за звичайну сперму (Fetrow et al., 2007).

Через низький рівень придатності спермійів після сортування проводять центрифугування для концентрації спермійів у невеликому об'ємі, що призводить до подальшого пошкодження вже стресованих спермійів, зниження здатності до запліднення (Maxwell et al., 1999) та скорочує термін придатності спермійів (Sá Filho et al., 2010). Різні процедури під час та після кріоконсервації відсортованої сперми, такі як розведення, охолодження, заморожування та розморожування, ще більше пошкоджують плазматичну мембрану спермія (Underwood et al., 2010).

Одним з головних недоліків запліднення сексованою спермою є те, що воно призводить до нижчих показників вагітності, ніж при традиційному заплідненні звичайною спермою

(Bayril, 2023). Звичайна доза сперми без визначеної статі містить приблизно 20 мільйонів спермій, тоді як концентрація спермій у спермі з визначенням статі становить лише приблизно 2 мільйони. Низька кількість спермій з визначеною статтю у спермодозі негативно впливає на запліднення. Також вона не рекомендується для корів, оскільки рівень запліднення може бути нижчим на 20 %, порівняно з використанням звичайної сперми (Hohenboken, 1999). Показник тільності корів при використанні сперми з визначеною статтю становить від 75 % до 90 % від показника тільності при застосуванні звичайної сперми (Seidel, 2014; Maicas et al., 2020; Perry et al., 2020). За результатами досліджень, проведених турецькими вченими, рівень заплідненості телиць голштинської породи сексованою спермою становив 70,7 %, а звичайною спермою – 77,7 %, абортувало – 7,4 % і 3,4 %, мертвонароджених телят – 6,0 % і 5,2 %, середня маса тіла телят при народженні – $36,6 \pm 3,8$ кг і $37,7 \pm 3,8$ кг, загинуло телят у віці 0-2 місяців – 11,3 % і 5,5 %, відповідно (Bayril, 2023). В іншому дослідженні, проведеному також на телицях голштинської породи ($n=211$), запліднених спермою з визначеною статтю, рівень мертвонародження становив 9,2 %, а у телиць, запліднених звичайною спермою, – 10,5 % (DeJarnette et al., 2009).

Технологія отримання сперми з визначеною статтю постійно вдосконалюється, але вона все ще дає нижчі показники фертильності, порівняно зі звичайною спермою. Основною причиною є зниження якості спермій, які піддаються впливу технологічних стресових факторів під час визначення статі (Gogol, 2018). На думку Steele H. et al. (Steele et al., 2020) це свідчить про те, що зниження рівня запліднення після осіменіння сексованою спермою зумовлене зміненою морфокінетикою спермій, зменшенням ймовірності досягнення сперміями ооцита та його запліднення, а також аномальним раннім ембріональним розвитком.

Сперму з визначеною статтю в основному рекомендують для запліднення телиць, які утримуються в задовільних умовах, є фізично здоровими та репродуктивно придатні з чіткими ознаками течки. Різні дослідження показують, що рівень зачаття сексованою спермою у телиць вищий, ніж у лактуючих корів (Seidel, 2003). Проте, багато хто вважає, що рішення осіменяти сексованою спермою бажано тільки телиць хибне. Наразі на першому плані має бути економічна доцільність скотарства: ефективність виробництва молока, його рентабельність, прибуток, реалізація нетелей.

Згідно з даними Фічак В. (Fichak, 2009), ефективність осіменіння тварин сексованою спермою становить близько 15 тис. грн у стаді з продуктивністю 6 тис. кг молока за лактацію і 24 тис. грн – за продуктивності понад 8 тис. кг, то ж затрати на неї швидко окуповуються. При цьому капіталовкладення в таку генетику у структурі витрат на тваринництво становлять не більше, ніж 3 %.

В останні роки, технологічний прогрес у виробництві сексованої сперми та збільшення дози сперми призвів до зростання рівня тільності, який з 35 % у 2012 році зріс до 67 % у 2016 році при заплідненні спермою з визначеною статтю (Lenz et al., 2016; Oikawa et al., 2019). За даними Hutchison і Bickhart (Hutchison & Bickhart, 2016) у США за період 2007–2015 рр. було осіменено 5,9 млн телиць (із них 1,3 млн сексованою спермою) і 42,2 млн корів (із них 0,25 млн сексованою спермою). Використання сперми за статтю як для телиць, так і для корів з 2007 до 2015 року збільшилося, причому більше зростання спостерігалось у телиць – з 9 % у 2007 році до 31 % у 2015 році. Завдяки вдосконаленню технології з 2007 до 2015 року показник плідних осіменінь сексованою спермою телиць за підтвердженими результатами тільності виріс на 7%, а телиць, осіменених традиційною спермою, – на 3 %, корів – на 4 і 2 %, відповідно.

Іншим важливим обмеженням проточної цитометрії є висока вартість та дороге її обслуговування. Також, як запатентована технологія, вона вимагає кваліфікованої робочої сили для її експлуатації та догляду. Успішне використання сперми з визначенням статі вимагає відмінного менеджменту стада, ретельного поводження зі спермою та використання кваліфікованого техніків зі штучного осіменіння.

Використання сперми, сортованої за статтю, сприяє швидшому генетичному прогресу завдяки збільшенню інтенсивності відбору, є важливим інструментом удосконалення молочного та м'ясного скотарства, що призводить до збільшення постачання телиць для ремонту стада та відповідного прискорення генетичного приросту (De Vries et al., 2008; Chebel et al., 2010). Завдяки застосуванню сперми з визначеною статтю, народження телят жіночої статі забезпечується приблизно у 90 % випадків, на відміну від середньої частоти 49 %, отриманої від звичайної сперми (De Jarnette et al., 2009; Norman, et al., 2010). Так, у дослідженнях, проведених на телицях голштинської породи, запліднених спермою з визначеною статтю ($n = 229$) та звичайною спермою ($n = 153$), кількість отриманих телят жіночої та чоловічої статі, запліднених сексованою спермою, становило 88 % і 12 %, а звичайною спермою – 54,8 % і 45,2 %, відповідно (Baužil, 2023). Отримання високого відсотку народжуваності теличок сприяє зростанню та розширенню молочного стада, покращує його генетику та біобезпеку.

За останні роки технологія отримання сексованої сперми вдосконалилася завдяки збільшенню показників сортування спермій та рівня заплідненості (Schenk et al., 2009). Встановлено, що з використанням цього нового біотехнологічного методу в молочному скотарстві зарубіжних країн одержують понад 90 % теличок на 100 результативних осіменіннь.

Жодних особливих технологічних вимог до використання сексованої сперми немає, все як за роботи із звичайною спермою: розморожувати сексовану сперму необхідно у водяній бані за температури 35 °C не менше як 45 сек; максимальний час від розморожування до осіменіння – 10–15 хв.

Використання замороженої сперми великої рогатої худоби з визначеною статтю відкриває нові можливості для всіх секторів індустрії штучного запліднення: схрещування, інбридинг, тестування потомства, трансплантація ембріонів, генетичні маркери та селекція геному (Galli & Balduzzi, 2009).

Оскільки сексовану сперму для комерційного використання одержують лише від кращих плідників, використання такої сперми у селекційно-племінній роботі забезпечує за короткий час підвищення продуктивності тварин та одержання вдвічі більше власного ремонтного поголів'я. Використовуючи сперму з визначеною статтю, інтенсивність відбору можна збільшити, вибираючи генетично кращих корів-замінників, що прискорює темпи генетичного приросту в молочних стадах.

У більшості господарств молочного напрямку в Україні досить сильно не допрацьовує система управління відтворенням і вирощуванням молодняку. Сервіс-період на сьогодні може сягати 180 днів. А це означає, що реально вихід телят на 100 корів у країні не перевищує 80 тварин. Зважаючи на те, що лише половина з цих телят будуть теличками, а рівень смертності молодняку сягає, на жаль, 8–10 %, рівень вирощування телиць такий, що парування багатьох з них відбувається після 20-місячного віку. В результаті господарство вже не планує нарощувати стадо, а намагається власним молодняком хоча б відремонтувати те, що є, а про його якість взагалі не йдеться. До того ж фінансові збитки від такої роботи з відтворенням молочного стада становлять 200–250 тис. грн. на кожні 100 корів.

Нині в Україні низка сільськогосподарських підприємств з успіхом використовує сперму з визначеною статтю. Зазвичай, її застосовують для запліднення телиць, оскільки результативність цих процедур (ступінь запліднюваності) у них більша, ніж у корів. Досвід роботи із сексованою спермою мають господарства Донецької, Дніпропетровської, Полтавської, Київської, Одеської, Харківської, Черкаської, Чернігівської областей. З липня 2007 року, коли вперше підприємство «Генетика і селекція» завезло сексовану сперму, нею запліднили телиць у 14 господарствах загальною кількістю 1430 голів. Для осіменіння використали 700 доз сперми червоно-рябої голштинської і 1400 доз чорно-рябої голштинської. Хоча концентрація спермій в одній дозі за стандартом становить лише 2,1 млн, отримано заплідненість телиць на рівні 75 % у 6 господарствах за природного способу виявлення тварин

у статевій охоті. На тих восьми фермах, де застосовували технологію штучної стимуляції статевої охоти, заплідненість становила 54 %. У господарствах, які вже отримали приплід, мали понад 90 % живих телиць, що відповідає прийнятому в світі стандарту з використання такої сперми. Звичайно, ці результати є реальними, якщо ветеринарний лікар і технік штучного осіменіння мають високий професійний рівень, а утримання й годівля задовольняють вимоги тварин. Одним з найважливіших факторів є безприв'язне утримання худоби. Це природна профілактика ожиріння, важких отелень, затримання посліду, ендометритів.

Є додаткові переваги, які отримує господарство за використання сексованої сперми (Sokhatskyi, 2017). По-перше, підвищується легкість отелення тварин, оскільки новонароджені телички є меншими за розміром та масою тіла, ніж бугайці. Перевага за легкістю отелень відчуватиметься, коли телиці, отримані від сексованої сперми, будуть розтелюватися і отримають здорову корову, з високою продуктивністю і безпроблемним подальшим заплідненням.

По-друге, згідно з даними лабораторії програм породного розвитку (AIPL) Міністерства сільського господарства США, в разі народження теличок від сексованої сперми, удвічі менше реєструють випадків із важкими отеленнями і мертвнонародженими телятами, ніж при народженні теличок від звичайної сперми. Реєструються також випадки загибелі матері теляти. А ті телиці, які виживають після важкого отелення, мають ускладнення на початку лактації та відносно низьку продуктивність і більше проблем зі здоров'ям та заплідненням. Важкі отелення продовжують сервіс-період пересічно до 20 днів.

По-третє, більша кількість теличок, отриманих від запліднення сексованою спермою, дає змогу відмовитися від закупки ремонтних тварин, що зводить нанівець ризики занесення інфекційних захворювань ззовні. І, зрештою, фермер матиме повне уявлення про генетику своїх тварин, а також про те, які технології вирощування, утримання та годівлі найбільш прийнятні для них.

По-четверте, господарство отримує широкі можливості для вибракування зі стада тих корів, які не відповідають вимогам продуктивності, відтворенню, здоров'ю тощо, і їх заміни молодими первістками кращої якості. Також, є можливість реалізувати частину ремонтних тварин в інші господарства та отримати прибутки.

По-п'яте, за короткий період можна поліпшити генетичний профіль тварин, оскільки є можливість осіменіння кращих тварин сексованою спермою найкращих бугаїв, за допомогою яких можна швидко наростити високопродуктивне здорове поголів'я, що дозволить у короткі строки підвищити рентабельність виробництва молока.

ВИСНОВКИ

Одним з найбільших досягнень з моменту появи штучного запліднення понад п'ять десятиліть тому є комерційне використання сперми з визначеною статтю. Розділення сперми великої рогатої худоби з X або Y хромосомами за допомогою проточної цитометрії для отримання теличок значно покращилося і має понад 90 % точності при використанні сперми з визначеною статтю. Ця унікальна технологія широко та швидко впроваджується виробниками молочної продукції для збільшення частки народжених телиць та отримання пов'язаних з цим переваг. Використання сперми з визначеним статтю підвищує генетичну цінність молочного стада, і рівень його продуктивності, що є критичним для молочної промисловості. Поступове вдосконалення методу сортування сперми за статтю та автоматизація поступово вирішує проблему фертильності спермій, відсортованих за статтю. Цілком можливо, що одного дня фертильність спермій, відсортованих за статтю, перевищить поточні рівні фертильності звичайної сперми.

Перспективи досліджень. Застосування сперми бугаїв з визначеною статтю для підвищення репродуктивної здатності корів м'ясних порід.

Інформація про конфлікт інтересів. Автори стверджують, що немає конфлікту інтересів щодо представлених матеріалів та результатів дослідження.

References

Agnese, B., Aparacida Vaz do Amaral, C., Hanlon, A. (2021). A perspective on the use of the use of sexed semen to reduce the number of surplus male dairy calves in Ireland: A pilot study. *Front Vet Sci*, 7, 623129. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.623128>.

Bayril, T. (2023). Effects of use of conventional and sexed semen on conception rate, calf sex, calf birth weight, and stillbirth in Holstein heifers. *Turk J Vet Anim Sci*, 47, 108-117. doi: 10.55730/1300-0128.4275.

Blecher, S.R., Howie, R., Li, S., Detmar, J., Blahut, L.M. (1999). A new approach to immunological sexing of sperm. *Theriogenology*, 52, 1309–21. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00219-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00219-8).

Boneya, G. (2021). Sexed semen and major factors affecting its conception rate in dairy cattle. *International Journal of Advance Research Biological Sciences*, 8(1), 99-107. <http://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2021.08.01.012>.

Chebel, R.C., Guagnini, F.S., Santos, J.E.P, Fetrow, J.P., Lima, J.R. (2010). Sex-sorted semen for dairy heifers: effects on reproductive and lactational performances. *J. Dairy Sci*, 93, 2496-507. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2858>.

Cran, D.G., Johnson, L.A., Miller, N.G., Cochrane, D., Polge, C. (1993). Production of bovine calves following separation of X- and Y-chromosome bearing sperm and in vitro fertilization. *Vet Rec*, 132(2), 40-41.

DeJarnette, J.M., Nebel R.L., Marshall, C.E. (2009). Evaluating the success of sex - sorted semen in US dairy herds from on farm records. *Theriogenology*, 71(1), 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.042>.

De Vries A, Overton M, Fetrow J, Leslie K, Eicker S, Rogers G. (2008). Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. *J Dairy Sci*, 91, 847-56. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0536>;

Ericsson, R.J., Langevan, C.N., Nishino, M. (1973). Isolation of fractions rich in Y spermatozoa. *Nature*, 245, 421-4. <https://doi.org/10.1038/246421a0>.

Fetrow, J.M.O. and Eicker, S. (2007). Sexed semen: economics of a new technology. *Proceedings Western Dairy Management Conference*, March 7-9, Reno, NV.

Fichak, V. (2009). Efektivna Korova: wyroscuvannya molodnhia [Text]. *Proposiciya*, 9, 120–2. [in Ukrainian].

Galli, A. and Balduzzi, D. (2009). Fertility of sexed bovine semen. *Proceeding: 44° International Symposium of Animal Production “Impact and perspectives of biology and technology of Animal Reproduction”* (Eds G.F. Greppi, S. Mura), 77, Milan.

Garner, D.L., Gledhill, B.L., Pinkel, D., Lakem S., Stephenson, D., Van Dilla, M.A. et al. (1983). Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. *Biol Reprod*, 28(2), 312-21.

Garner, D.L. and Seidel Jr, G.E. (2008). History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology*, 69, 886-95.

Gledhill, B.L., Lake, S., Steinmetz, L.L., Gray, J.W., Crawford, J.R., Dean, P.N. et al. (1976). Flow microfluorometric analysis of sperm DNA content: effect of cell shape on the fluorescence distribution. *J Cell Physiol*, 87(3), 367-75.

- Gogol, P. (2018). Sexed semen, reasons for reduced fertility and the possibility of accurate quality assessment. *Rocz Nauk Zoot*, 45, 13–8.
- Hohenboken, W.D. (1999). Applications of sexed semen in cattle production. *Theriogen*, 52, 1421-33.
- Hutchison, J.L. and Bickhart, D.M. (2016). Sexed-semen usage for Holstein AI in the United States. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 176.
- Johnson, L.A. and Pinkel, D. (1986). Modification of a laser-based flow cytometer for high-resolution DNA analysis of mammalian spermatozoa. *Cytometry*, 7(3), 268-73.
- Johnson, L.A., Flook, J.P., Look, M.V., Pinkel, D. (1987). Flow sorting of X and Y chromosome bearing spermatozoa into two populations. *Gamete Res*, 16(1), 1-9.
- Johnson, L.A. (2000). Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. *Anim Reprod Sci*, 60/61, 93-107. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00088-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00088-9).
- Kaneko, S., Oshiro, S., Kobayashi, T., Itzuki, R., Mohri, H. (1984). Human X- and Y-bearing sperm differ in cell surface sialic acid content. *Biochem Biophys Resour Comm*, 124, 950-5.
- Lenz, R.W., Gonzalez-Marin, C., Gilligan, T.B., DeJarnette, J.M., Utt, M.D. et al. (2016) 190 SexedULTRA™, A new method of processing sex - sorted bovine sperm improves conception rates. *Reproduction, Fertility and Development*, 29, 203-4. <https://doi.org/10.1071/RDv29n1Ab190>
- Maicas, C., Holden, S.A., Drake, E., Cromie, A.R., Lonergan, P. et al. (2020). Fertility of frozen sex-sorted sperm at 4×10^6 sperm per dose in lactating dairy cows in seasonal-calving pasturebased herds. *Journal of Dairy Science*, 103, 929-939. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-1713>.
- Maxwell, W.M.C., Evans, G., Mortimer, S.T., Gillan, L., Gellatly, E.S. et al. (1999). Normal fertility in ewes after cervical insemination with frozen – thawed spermatozoa supplemented with seminal plasma. *Reprod Fertil Dev*, 11, 123-6.
- Norman, H.D., Hutchison, J.L., Miller, R.H. (2010). Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. *J Dairy Sci*, 93, 3880-90. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2781>.
- Oikawa, K., Yamazaki, T., Yamaguchi, S., Abe, H., Bai, H. et al. (2019). Effects of use of conventional and sexed semen on the conception rate in heifers: A comparison study. *Theriogenology* (135): 33-37. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.01>.
- Ollero, M., Perez-Pe, R., Argallo, I., Moralanes, S., Osalda, J., Muino-Blanco, T., Cebrain-Perez, J. (2000). Separation of ram spermatozoa bearing X and Y chromosome by centrifugal countercurrent distribution in an aqueous of two phase system. *J Androl*, 21, 921-8.
- Perry, G.A., Walker, J.A., Rich, J.J., Northrop, E.J., Perkins, S.D. et al. (2020). Influence of sexcel (gender ablation technology) gender - ablated semen in fixed - time artificial insemination of beef cows and heifers. *Theriogenology*, 146, 140-4. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.030>.
- Rath, D., Barcikowski, S., De Graaf, S., Garrels, W., Grossfeld, R., Klein, S. et al. (2013). Sex selection of sperm in farm animals: status report and developmental prospects. *Reproduction*, 145, 15-30. <https://doi.org/10.1530/REP-12-0151>.
- Sá Filho, M.F., Ayres, H., Ferreira, R.M., Nichi, M. and Fosado, M. et al. (2010). Strategies to improve pregnancy per insemination using sex - sorted semen in dairy heifers detected in estrus. *Theriogen*, 74, 1636-42.
- Schenk, J.L., Cran, D.G., Everett, R.W., Seidel Jr, G.E. (1999). Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. *Theriogenology*, 71, 717-28. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.04.026>.
- Seidel Jr, G.E., Johnson, L.A., Allen, C.A., Welch, G.R., Holland, M.D., Brink, Z. et al. (1996). Artificial insemination with X- and Y-bearing bovine sperm. *Theriogenology*, 45, 309.

- Seidel Jr, G.E., Allen, C.H., Johnson, L.A., Holland, M.D., Brink, Z., Welch, G.R.(1997). Uterine horn insemination of heifers with very low numbers of nonfrozen and sexed sperm. *Theriogenology*, 48, 1255–64.
- Seidel Jr, G.E. and Garner, D.L. (2002). Current status of sexing mammalian spermatozoa. *Reprod*, 124(6), 733-43.
- Seidel Jr, G.E. (2014). Update on sexed semen technology in cattle. *Animal* 8:160-164.
- Shalini, G. (2025). Sexing of Spermatozoa. *Bio Vet Innovator Magazine*, 2 (4), 14-19. doi: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15332960>.
- Sokhatskyi, P. (2017). Seksovane sperma: istoriia, mify, progress i realnist. *Agroexpert*, № 9. [in Ukrainian]
- Steele, H., Makri, D., Maalouf, W.E., Reese, S., Kölle, S. (2020). Bovine Sperm Sexing Alters Sperm Morphokinetics and Subsequent Early Embryonic Development. *Sci Rep*, 10(1), 6255. doi: 10.1038/s41598-020-63077-6.
- Underwood, S.L., Bathgate, R., Ebsworth, M., Maxwell, W.M.C., Evans, G. (2010). Pregnancy loss in heifers after artificial insemination with frozen thawed, sex - sorted, re - frozen thawed dairy bull sperm. *Anim Reprod Sci*, 118(1), 7-12.
- Van Munster, E.B. (2002). Interferometry in flow to sort unstained X- and Y-chromosome bearing bull spermatozoa. *Cytometry*, 35, 125-128. <https://doi.org/10.1002/cyto.10064>.
- Vishwanath, R. (2003). Artificial insemination: the state of the art. *Theriogenology*, 59, 571-84. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01241-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01241-4).