ЕФЕКТИВНІСТЬ ВІДТВОРЕННЯ МОЛОЧНОЇ ХУДОБИ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ РІЗНИХ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ

С. Ю. РУБАН, доктор сільськогосподарських наук, професор,
член-кореспондент НААН України, завідувач кафедри генетики,
розведення та біотехнології тварин
<http://orcid.org/0000-0002-8114-3665>
E-mail: rubansy@gmail.com

В. О. ДАНШИН, кандидат сільськогосподарських наук, інженер першої
категорії кафедри генетики, розведення та біотехнології тварин
<https://orcid.org/0000-0001-9012-6835>
E-mail: vadanshin68@gmail.com

А. А. КИРІЙ, аспірант* кафедри генетики, розведення та біотехнології тварин
<https://orcid.org/0000-0001-5761-7464>
E-mail: kirij_aa_gadkivka@ukr.net

Т. В. ЛИТВИНЕНКО, кандидат сільськогосподарських наук, доцент
кафедри генетики, розведення та біотехнології тварин
<https://orcid.org/0000-0002-0405-3367>
E-mail: tv_litv@ukr.net

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Анотація. У розведенні молочної худоби важливе значення має застосування біотехнологічних методів, перш за все, використання допоміжних репродуктивних технологій (англ. assisted reproductive technologies, ART), таких як штучне осіменіння, множинна овуляція і трансплантація ембріонів. Метою досліджень було проведення аналізу ефективності застосування чотирьох методів запліднення телиць та корів з використанням традиційного штучного осіменіння кріоконсервованою спермою (1-група), осіменінням кріоконсервованою спермою, розділеною за статтю (сексована сперма – 2-група), методами трансплантації свіжовимитих (3-група) та заморожених ембріонів (4-група). В досліді відмічено тенденцію зниження кількості осіменінь у розрахунку на одне плідне в групах тварин, за якими використовували осіменіння сексованою спермою (1,2 осіменінь), трансплантацію свіжовимитих (1,1 осіменінь) та заморожених ембріонів (1,0 осіменінь, порівняно з використанням традиційного штучного осіменіння кріоконсервованою спермою (1,3 осіменінь). Водночас значення сервіс-періоду було найменшим в групах, де застосовувався метод трансплантації ембріонів (відповідно свіжовимиті – 118,0 днів і кріоконсервовані – 76,8). Для оцінки впливу

* Науковий керівник - доктор сільськогосподарських наук, професор С. Ю. Рубан

основних організованих та генетичних факторів, таких як сезон року, плідник (батько корови), спосіб відтворення, вік першого плідного осіменіння та величина надою за першою лактацією, була застосована багатомірна лінійна регресійна модель. Всі зазначені фактори, окрім надою за 305 днів лактації, вірогідно впливали на кількість осіменінь у розрахунку на одне запліднення за ступеня впливу від 2,9 % (сезон року) до 8,9 % (вік осіменіння), при цьому ступінь впливу способу відтворення становив 3,7 %. Щодо сервіс-періоду, то лише сезон року мав вірогідний вплив на цей показник за ступеня впливу 4,7 %. Таким чином, виявлені певні переваги методу традиційного штучного осіменіння кріоконсервованою спермою та спермою розділеною за статтю. Під час застосування методики маржинального доходу відмічена висока ефективність пересадки свіжовимитих ембріонів, що дало змогу отримати прибуток (за умов продажу нетелів за фіксованою ціною 90 грн за один кілограм живої маси). Для покриття витрат, здійснених в процесі пересадки заморожених ембріонів, мінімальна ціна повинна бути в межах 120-150 грн за один кг живої маси нетеля, або 67 тис. грн за одну голову.

Ключові слова: молочна худоба, пересадка ембріонів, осіменіння, сперма, розділена за статтю, ефективність відтворення

Актуальність.

Генетичне покращення сільсько-господарських тварин, у тому числі молочної худоби, відігріє значну роль у підвищенні прибутковості галузі тваринництва. Важливе значення водночас має застосування біотехнологічних методів, перш за все, використання допоміжних репродуктивних технологій (англ. assisted reproductive technologies, ART), таких як штучне осіменіння, множинна овуляція і трансплантація ембріонів (англ. multiple ovulation and embryo transfer, MOET) та інших (Niemann and Wrenzyski., 2018). Без ефективного використання таких технологій прискорення темпів генетичного прогресу в сучасних умовах стає неможливим. В останні часи технології ART розширюють свої можливості, виконуючи ряд важливих функцій, які пов'язані з генетичними способами оцінки племінної цінності та гарантованим отриманням наступного покоління тварин за даними характерис-

тиками. Для більшості комерційних підприємств, які займаються молочним скотарством, постійно виникають питання вибору способів ART, де основним критерієм оцінки ефективності є гарантія отримання цінного приплоду з мінімумом витрат на обраний спосіб.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

За даними ряду авторів (Sanches et al., 2019) кількість ембріонів, вироблених шляхом запліднення *in vitro* або ЕКЗ (ЕКЗ - екстракорпоральне запліднення), в останні роки швидко зростає (Sirard M., 2018). Так, кількість ембріонів у всьому світі, отриманих за технологією *in vitro*, була значно більшою, ніж *in vivo*. Це розширює можливості використання геномного аналізу для відбору тварин з бажаними ознаками (VanRaden, 2017; 2018; Wiggans et al., 2017). Окрім того, це більш зручний інструмент оцінювання якості як яйцеклітин, так і ембріонів. Оптимізація

збору та використання гамет в пубертатний період (лат. *Pubertas* - період статевого дозрівання), ефективного використання сперми, розділеної за статтю (Cottle et al., 2018), вдосконалення культуральних середовищ та методів отримання і кріоконсервації ембріонів (Beneden et al., 1991) становлять постійний комерційний інтерес за реалізації масштабних молочних програм (Sanches et al., 2019).

Такі розробки представляють революційний інтерес в медицині (Smith et al., 2019), а в більшості випадків знаходять широке застосування в аграрному секторі і особливо у тваринництві. Для покращення фертильності, запобігання репродукційних втрат та отримання нащадків з кращим генетичним потенціалом як для людини, так і для інших ссавців застосовуються сучасні репродукційні технології. Практика генетичної оцінки в тваринництві України базується на тиражуванні або отриманні великої кількості потомків від цінних в племінному відношенні особин. Для цього використовують методи репродукційної генетики та біотехнології а саме: метод штучного осіменіння з використанням кріоконсервованої сперми; сперми, розділеної за статтю або сексінг сперми; пересадку ембріонів як нативних (свіжовимитих), так і розморожених ембріонів після їх довготривалого зберігання за температури рідкого азоту (-196 °C). Кожний з означених методів має особливості в застосуванні і впливає на загальний рівень відтворення тварин.

Мета роботи – провести аналіз ефективності чотирьох способів осіменіння молочних корів за кінцевими показниками відтворення (запліднення) та здійснених фінансових витратах при цьому.

Матеріали і методи досліджень.

Дослідження проводились в ПОСП «Жадківське» Ічнянського району, Чернігівської області в період 2016-2020 років. Станом на початок 2020 року в господарстві налічувалось 454 корови, з яких за породами: монбельярд (імпорт з Франції) – 84 голови; голштин-фризи (власна репродукція) – 109 голів; симентали – 207 голів; помісне поголів'я – 54 голови. В господарстві застосовують стійло-прив'язний тип утримання з доїнням корів в молокопровід фірми “DeLaval”, годівля – однотипова з застосуванням мобільних кормозмішувачів та роздаванням кормів на кормовий стіл. Мікроклімат в приміщенні підтримується за рахунок сучасної притоково-витяжної вентиляції.

Загальна вибірка для дослідження, за якою здійснювався контроль даних продуктивності та відтворення, починаючи від народження до кінця другої лактації, становила 302 голови. Інформація фіксувалась згідно прийнятих норм зоотехнічного та племінного обліку.

Надій на корову у 2019 році становив 7280 кг за вмісту жиру – 3,84 %, білка – 3,39% та середньої живої маси повновікових корів – 620-710 кг. Середнє значення сервіс-періоду стада склало 138 днів.

Якість кормів та структура раціону сухостійних та дійних корів наведені в статті С. Ю. Рубана та ін. (Ruban et al., 2018).

За прийомами (способами) осіменіння та відповідно запліднення тварин було виділено чотири досліджувані групи, які і склали загальну схему проведення експерименту.

Штучне осіменіння кріоконсервованою спермою (1-група) проводилось на телицях парувального віку або до 110 дня після отелення корови за умов прояву спонтанної охоти. Осіменяли тільки клінічно здорових тварин (без прояву метритів, ендометритів тощо). Якщо після 110 дня тварина не приходила в охоту або не була запліднена, проводилась повторна діагностика а за умов відсутності захворювань застосовувалась синхронізація охоти за схемами неповної (Pre-Synch) або повної (Ovsynch) стимуляції з використанням препаратів простогландинової групи.

Штучне осіменіння кріоконсервованою сексованою (розділеною за статтю) спермою (2-група) проводилося лише на клінічно здорових телицях після 14-місячного віку від народження та досягнення стандарту за живою масою і без застосування схем синхронізації еструсу.

Метод трансплантації свіжовимитих ембріонів (3-група) проводився лише методом синхронізації донорів та реципієнтів (корів та телиць) за схемою Ovsynch. Для донорів використовували такі препарати як „Естрофан”, „Прид-Дельта” та „Тетравіт”. Для стимуляції супероуляції – ФСГ „Фолтропін” або „Фолігон”, а для покращення приживлення – „Хорулон” (аналог „Сурфатон”). Схема реципієнтів передбачала використання „ПридДельта” та на восьмий день – „Естрофан” і через 7 днів підсаджували ембріон.

Метод трансплантації заморожених ембріонів (4-група) передбачав синхронізацію реципієнтів так же, як і по тваринах 3-тньої групи.

Статистичний аналіз даних проводився з використанням процедури загальної лінійної моделі програми SPSS 17.0.

Для аналізу використовувалась наступна лінійна модель:

$$y_{ijkl} = \mu + a_{li} + a_{2j} + a_{3k} + b_1 x_1 + b_2 x_2 + e_{ijkl} \quad (1)$$

де y_{ijkl} – значення ознаки (сервіс-період, число осіменінь на одне запліднення);

μ – загальне середнє значення ознаки по вибірці;

a_{li} – ефект і-го сезону року;

a_{2j} – ефект j-го бугая-плідника;

a_{3k} – ефект k-го осіменіння;

x_1 – вік телиці при осіменінні;

x_2 – надій за 305 днів;

b_1 і b_2 – коефіцієнти регресії;

e_{ijkl} – залишок.

Вірогідність впливу факторів, що вивчалися, визначалась з використанням критерію Р.Фішера (F):

$$F = MS_F / MS_R \quad (2)$$

де MS_F – середній квадрат відхилень, обумовлений впливом фактора;

MS_R – залишковий середній квадрат відхилень.

Економічну ефективність різних біотехнологічних методів оцінювали на основі маржинального доходу (М) або маржинального прибутку (від англ. contribution margin), коли враховувалась різниця між виторгом від реалізації продукції без урахування ПДВ і акцизів та змінними витратами за формулою:

$$M = S - V \quad (3)$$

S – виторг від реалізації продукції (в нашому випадку це гроші, отримані від реалізації племінної телиці (нетеля);

V – сукупні змінні витрати, які включали в тому числі витрати на осіменіння.

Загальна схема господарського досліджу наведена в табл. 1.

Значення сервіс-періоду було найменшим у третій і четвертій групах (118,0 і 76,8 днів, відповідно).

1. Поголів'я телиць і корів у дослідних групах і значення сервіс-періоду

Дослідна група	Кількість голів	Середнє значення, М	Стандартна помилка, SE	Стандартне відхилення, σ
1-група	272	130,39	3,737	61,640
2-група	7	168,71	23,461	62,072
3-група	13	118,00	11,633	41,942
4-група	10	76,80	6,264	19,809
Разом (середнє)	302	128,97	3,507	60,940

Результати дослідження та їх обговорення.

В таблиці 2 наведено середні значення показників відтворення і продуктивності за дослідними групами, що свідчить про суттєву розбіжність між основними даними. Характерною тенденцією є зниження кількості осіменінь у розрахунку на одне запліднення в групах тварин, за якими використовували осіменіння сексованою спермою (1,2 осіменінь) і трансплантацію свіжовимитих (1,1 осіменінь) або заморожених ембріонів (1,0 осіменінь) порівняно з використанням традиційного штучного осіменіння кріоконсервованою спермою (1,3 осіменінь). Можна спостерігати пев-

ні розбіжності щодо надою первісток і особливо за тваринами другої групи.

В таблиці 3 показані попарні різниці між дослідними групами за значенням сервіс-періоду із зазначенням їх вірогідності. Лише у двох випадках різниці були вірогідними, а саме між першою і четвертою та між другою і четвертою групами ($P > 0,99$).

Проведений дисперсійний аналіз, результати якого відображені в таблиці 4, дозволив оцінити ступінь впливу основних факторів (сезон року, бугай-плідник, спосіб відтворення, вік осіменіння і надій за 305 днів лактації) на показники відтворення (кількість осіменінь у розрахунку на одне запліднення і відповідно сервіс-період).

2. Середні значення показників відтворення і продуктивності в дослідних групах

Ознаки, число спостережень, статистичні показники 1-група		Дослідні групи				По всій вибірці
		1-група	2-група	3-група	4-група	
Вік осіменіння, днів	М*	705,4	638,2	599,9	524,3	694,5
	SE**	8,708	33,86	28,40	55,03	8,73
	σ ***	206,6	107,1	130,15	252,21	208,14
Кількість осіменінь на плідне	М	1,30	1,20	1,10	1,00	1,28
	SE	0,030	0,133	0,066	0,001	0,028
	σ	0,717	0,422	0,301	0,001	0,693
Надій за 305 днів, кг	М	5003	7147	5107	5304	5050
	SE	59,82	272,33	227,82	221,86	57,23
	σ	1362,7	817,0	966,5	941,2	1359,3

Примітка: *М - середнє значення ознаки; ** SE - стандартна помилка; *** σ - стандартне відхилення

3. Значення різниць показників тривалості сервіс-періоду в дослідних групах з різними способами осіменіння

Порівняльні групи	Різниця між групами	Помилка різниці	Вірогідність різниці ($\alpha = 1 - P$)
1-2	-39,692	23,104	0,087
1-3	10,128	17,285	0,558
1-4	51,929	19,484	0,008**
2-3	49,820	28,228	0,079
2-4	91,621	29,660	0,002**
3-4	41,802	25,321	0,100

Примітка: **P > 0,99

Всі зазначені фактори, окрім надою за 305 днів лактації, вірогідно впливали на кількість осіменіння у розрахунку на одне запліднення за ступеня впливу від 2,9 % (сезон року) до 8,9 % (вік осіменіння), при цьому ступінь впливу способу відтворення склала 3,7 %. Щодо сервіс-періоду, то лише сезон року мав вірогідний вплив на цей показник за ступеня впливу 4,7 %.

Для коректної економічної оцінки чотирьох біотехнологічних способів отримання телят застосувались мето-

дика маржинального доходу (Ruban S. Y. та ін., 2017). Для цього в умовах ПОСП «Жадківське» Ічнянського району, Чернігівської області нами були регламентовані константи, які, в свою чергу, можуть бути характерними для більшості господарств України:

1) отримання бугайців з наступним вирощуванням на м'ясо для господарства нерентабельне;

2) комерційна (ринкова) ціна за 1 кг живої маси племінного нетеля

4. Оцінка ступеня впливу факторів на показники відтворення

Фактор	Ступінь впливу, %	F	Вірогідність впливу ($\alpha = 1 - P$)
Кількість осіменіння у розрахунку на одне запліднення			
Сезон	2,9	4,484	0,004**
Плідник	5,5	26,815	0,000***
Спосіб відтворення	3,7	8,757	0,000***
Вік осіменіння	8,9	44,420	0,000***
Надій за 305 днів	0,8	3,804	0,052
Сервіс-період			
Сезон	4,7	4,009	0,008**
Плідник	0,1	0,058	0,810
Спосіб відтворення	1,5	1,893	0,153
Вік осіменіння	0,6	1,532	0,217
Надій за 305 днів	0,3	0,795	0,373

Примітки: **P > 0,99, ***P > 0,999

5. Оцінка ефективності різних способів осіменіння та запліднення тварин

Показники	Кріоконсервованою спермою (1-група)	Кріоконсервованою сексованою спермою (2-група)	Трансплантація світовитих ембріонів (3-група)	Трансплантація заморожених ембріонів (4-група)
Виторг від реалізації нетеля (S)*, грн.	43200	43200	43200	43200
Витрати на одне запліднення, грн.	125,58	879,36	556,28	14041,0
Вірогідність народження телички	0,5	0,9	0,5	0,5
Витрати на запліднення з урахуванням вірогідності народження телички, грн.	251,16	977,0	1112,56	28082,0
Сукупні витрати(V)*, грн.	26651	27377	27511	54482
Прибуток(М)*, грн.	16549	15823	15687	-11282

Примітка:*символи з формули маржинального доходу (див. методику)

(станом на початок 2020 року) складає 90 грн.;

3) вірогідність народження телички за першою, третьою та четвертою групами (див. табл. 7) складає 0,5, а за другою (застосування сексованої сперми) – 0,9, тобто вихід телиць відповідно 50 % та 90 %;

4) витрати на осіменіння за групами з вірогідністю отримання телички у 50 % (або 0,5 долі одиниці) зростають у два рази, оскільки не покриваються збитками від народження бугайців (див. пункт 1);

5) середня жива маса нетеля під час продажу складає 480 кг. Такі умови дали можливість розрахувати економічну ефективність різних біотехнологічних методів на основі маржинального доходу (табл. 5).

Таким чином, виявлені певні переваги методу традиційного штучного осіменіння кріоконсервованою спермою та спермою, розділеною за статтю. В умовах господарства, де проводився дослід, відмічена висока ефективність застосування пересадки свіжовимитих ембріонів, що дало змогу отримати прибуток за умов

продажу нетелей за фіксованою ціною (90 грн. за один кілограм живої маси). Для покриття витрат, здійснених в процесі пересадки заморожених ембріонів, мінімальна ціна повинна складати в межах 120-150 грн. за один кг живої маси нетеля, або 67 тис. грн. – за одну голову.

Висновки та перспективи.

Проведені дослідження свідчать про вірогідний вплив методів відтворення молочних корів (штучне осіменіння кріоконсервованою спермою, штучне осіменіння кріоконсервованою сексованою спермою, трансплантація свіжовимитих ембріонів і трансплантація свіжовимитих ембріонів) на кількість осіменінь у розрахунку на одне запліднення за ступеня впливу від 2,9 % до 8,9 % і можливість зниження цього показника у випадку застосування сексованої сперми і трансплантації ембріонів. Найбільш економічно доцільним способом осіменіння корів у дослідженому стаді є використання кріоконсервованої сперми (1 група), дещо

нижчою є ефективність використання кріоконсервованої сексованої сперми (2 група) та трансплантація свіжовимитими ембріонами (3 група).

References

1. Niemann, H. And Wrenzyski, C. (2018). Animal Biotechnoloy 2. Emerging breeding technologies. Springer. 306.
2. Sanches, B. V., Zangirolamo A.F., Seneda M.M.(2019).Intensive use of IVF by large-scale dairy programs. Proceedings of the 33rd Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE). Ilhade Comandatuba. BA. Brazil. 394-401.
3. Sirard, M. (2018). 40 years of bovine IVF in the new genomic selection context. Reproduction. 156 (1). R1-R7.
4. VanRaden P.M. (2010). Net merit as a measure of lifetime profit: 2017 revision. United States Department of Agriculture Agricultural Research Service. <https://www.aipl.arsusda.gov/reference/nmcalc-2017.htm>
5. VanRaden, P.M., Cole, J.B., Parker Gaddis, K.L. (2018) Net merit as a measure of lifetime profit: 2018 revision. United States Department of Agriculture Agricultural Research Service. <https://aipl.arsusda.gov/reference/nmcalc-2018.htm>
6. Wiggans, G.R., Cole, J.B., Hubbard, S.M., Sonstegard, T.S. (2017). Genomic Selection in Dairy Cattle: The USDA Experience. Annual Review of Animal Biosciences.1-13.
7. Cottle, D.J., Wallace, M., Loneragan, P., Fahy, A.G. (2018). Bio-economics of sexed semen utilization in a high producing Holstein-Friesian dairy herd. Journal of Dairy Science. 101. 4498-4512.
8. Beneden, T.H., Willemse, A.H., Taverne, M.A. (1991). Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. Theriogenology. 35. 857-862.
9. Smith, H.L., Stevens, A., Minogue, B., Sneddon, S., Shaw, L., Wood, L., Adeniyi, T., Xiao, H., Lio, P., Kimber, S.J., Brison, D.R. (2019). Systems based analysis of human embryos and genetic works involved in cell lineage allocation. BMC Genomics. 20. 171.
10. Ruban, S.Y., Fedota, O.M., Danshin, V.O., Mitiohlo, L.M. (2017). Experience and perspectives of milk pricing (Ukraine and world tendencies). Agricultural science and food technologies. 1(95). 148-158.
11. Ruban, S.Yu., Perekrestova, A.V., Shablia, V.D., Bochkov, V.M. (2018). Feed conversion efficiency in different groups of dairy cows. Ukrainian journal of Ecology. 8(1).124-129.

S. Yu.Ruban, V. O.Danshin, A. A.Kyrii, T. V.Litvinenko (2020). EFFICIENCY OF REPRODUCTION OF DAIRY CATTLE WITH APPLICATION OF DIFFERENT BIOTECHNOLOGICAL METHODS. ANIMAL SCIENCE AND FOOD TECHNOLOGY, 11(1): 77-85. <https://doi.org/10.31548/animal2020.01.077>

Abstract. The use of biotechnological methods, especially the use of assisted reproductive technologies (ART), such as artificial insemination, multiple ovulation and embryo transplantation, is important in dairy cattle breeding. The purpose of the research was to analyze the effectiveness of the application of four methods of fertilization of heifers and cows using traditional artificial insemination with cryopreserved semen (1-group), insemination with cryopreserved sexed semen (2-group), embryo transplantation of fresh (3-group) and frozen (group 4)embryos. The experiment showed a tendency for a decrease in the number of inseminations per conception in groups of animals inseminated with sexed semen (1.2 insemination),transplantation of fresh embryos (1.1 insemination) and frozen embryos (1.0 insemination) compared to using traditional artificial insemination with cryopreserved semen (1.3 insemination). Days open was the lowest

in the groups where the embryo transplantation was used (fresh embryos -118.0 days and cryopreserved embryos – 76.8 days, respectively). A multivariate linear model was used to evaluate the influence of major organized and genetic factors such as the season of the year, sire (the cow's father), the reproduction method, the age at first fertile insemination and the milk yield in the first lactation. All of these factors, except for milk yield in 305 days of lactation, significantly influenced the number of inseminations per conception with the influence from 2.9 % (season of the year) to 8.9 % (age at insemination), while influence of the reproduction method was 3,7 %. As to days open, only the season of the year had a significant impact on this trait with an influence of 4.7 %. Thus, certain advantages of the method of traditional artificial insemination with cryopreserved semen and sexed semen were revealed. Applying the method of margin income, high efficiency of transplantation of fresh embryos was noticed, which made it possible to make a profit (under conditions of sale of heifers at a fixed price of 90 UAH per 1 kg of live weight). To cover the costs of frozen embryos transplantation, the minimum price should be in the range of 120-150 UAH per kg of live weight of calf, or 67 th. UAH per head.

Keywords: dairy cattle, embryo transfer, insemination, sexed semen, reproduction efficiency.