

УДК 636. 225. 1. 082. 454

06.02.10 – Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства (сельскохозяйственные науки)

ПОЛУЧЕНИЕ ЭМБРИОНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОБЫЧНОГО И СЕКСИРОВАННОГО СЕМЕНИ В ОАО АГРОХОЛДИНГ «КУБАНЬ»

Нимбона Константин
аспирант

cosnim120@yahoo.fr

SPIN-код: 5149-8617

Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, Россия, г. Краснодар

В ОАО Агрообъединение «Кубань» Усть-Лабинского района, Краснодарского края, проводились научные исследования по получению эмбрионов от коров и телок-доноров при использовании сексированного и обычного замороженного семени. В первом опыте использовали 159 доз обычного замороженного семени от 3 разных быков для осеменения 57 коров и телок – доноров. Во втором опыте израсходовали 63 дозы обычной замороженной спермы от 3 разных быков для осеменения 21 коров и телок доноров после обработки суперовуляцией в течение 9 дней. На 7-й день после осеменения вымывали эмбрионов у подопытных коров и телок доноров, считали их количество и оценивали качество. В результате исследования оказалось, что полученные эмбрионы от каждого донора были разными по количеству и качеству. Количество эмбрионов, при использовании традиционной спермы, было от 1 до 42, а в среднем на 1 корову - $13,68 \pm 2,45$. Из них $8,40 \pm 1,08$ эмбрионов принадлежали к первому классу, $0,35 \pm 0,45$ – ко 2-му классу; $4,90 \pm 0,94$ к 3-му классу, а также $4,90 \pm 0,94$ мелких эмбрионов. После осеменения доноров сексированной спермой получено от 1 до 22 эмбрионов, в среднем $9,01 \pm 4,03$. в том числе $4,92 \pm 3,04$ эмбрионов принадлежащих к 1-му классу, $1,31 \pm 1,02$ – второго класса, $0,28 \pm 0,27$ – 3-го класса и $2,48 \pm 0,71$ мелкие. Результаты показали, что среднее количество эмбрионов, полученных с использованием обычной спермы больше по сравнению с использованием спермы, разделенной по полу, независимо от коровы или телки - донора. Заключение: использование традиционного замороженного семени позволяет получить от коров и телок-доноров большее количество эмбрионов и лучшее их качество

Ключевые слова: ТРАДИЦИОННАЯ ЗАМОРОЖЕННАЯ СПЕРМА, БЫКИ, СЕКСИРОВАННАЯ СПЕРМА, СУПЕРОВУЛЯЦИЯ, ЭМБРИОН, ДОНОР, ТЕЛКА, КОРОВА

DOI: <http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-157-010>

UDC 636. 225. 1. 082. 454

Private zootechnics, technology of production of animal products (agricultural sciences)

EMBRYO PRODUCTIONS WITH CONVENTIONAL AND SEXED SEMEN USE IN "KUBAN" AGRO COMPANY

Nimbona Constantin
postgraduate

cosnim120@yahoo.fr

RSCI SPIN-code: 5149-8617

Kuban state agrarian University named after I. T. Trubilin, Russia, Krasnodar

At the Kuban Agricultural Association OJSC, Ust-Labinsky District, Krasnodar region, a research has been carried out on obtaining embryos from cows and heifers of donors using sexed and conventional frozen seed. In the first experiment, 159 doses of ordinary frozen semen from 3 different bulls were used to inseminate 57 cows and heifers - donors. In the second experiment, 63 doses of normal frozen semen from 3 different bulls were expended for insemination of 21 cows and heifers of donors after treatment with super ovulation for 9 days. On the 7th day after insemination, the embryos were collected in experimental cows and heifers of the donors, their number was counted, and the quality was evaluated. As a result of the study, it observed that the obtained embryos from each donor were different in quantity and quality. The number of embryos, using traditional sperm, was from 1 to 42, and on average per cow 13.68 ± 2.45 . Among them, 8.40 ± 1.08 embryos belonged to the first class, 0.35 ± 0.45 - to the 2nd class; 4.90 ± 0.94 to the 3rd class, as well as 4.90 ± 0.94 embryos were degenerated. After donor insemination with sexed sperm, 1 to 22 embryos were obtained, an average of 9.01 ± 4.03 . Including 4.92 ± 3.04 embryos belonging to the 1st class, 1.31 ± 1.02 - of the second class, 0.28 ± 0.27 - of the 3rd class and 2.48 ± 0.71 degenerated. The results showed that the average number of embryos obtained using conventional sperm is larger compared to the use of sexed semen, regardless of the donor cow or heifer. Conclusion: the use of traditional frozen semen allows us to get more and better quality embryos from cows and heifer donors

Keywords: TRADITIONAL FROZEN SPERM, BULLS, SEXED SPERM, SUPEROVULATION, EMBRYO, DONOR, HEIFER, COW

ВВЕДЕНИЕ. Использование сексированного семени способствует быстрому размножению маточного поголовья для производства молока и говядины от молочного и мясного скота [2]. Современные высокорентабельные фермерские скотоводческие хозяйства интенсивно используют сексированное семя для получения племенных телок от молочных коров с высокой генетикой продуктивности и мясных бычков от низкопродуктивных матерей [3,5]. Использование сексированного семени также снижает затраты на тестирование (оценку по качеству потомства) бычков с известной генетикой [2]. Достигнутые положительные результаты использования сексированного семени для получения эмбрионов, приобрели особую значимость в коммерческих фермерских хозяйствах [1]. Сексированная сперма, особенно женская, достаточно широко используется для получения превосходных ремонтных телок с высоким генетическим потенциалом.

В Агрохолдинге «Кубань» Усть - Лабинского района за счет использования сексированного семени с высокой генетикой достигли существенного повышения молочной продуктивности коров во всем стаде.

Вместе с тем, в хозяйстве получение эмбрионов, при использовании сексированного семени, остается под вопросом. В среднем от каждого донора (коровы и телки) получают эмбрионов небольшое количество и не достаточно высокого качества. В этой связи специалистами и учеными принято решение продолжить исследования по изысканию методов повышения количества и качества эмбрионов, а также увеличения рентабельности производства молока.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ОАО Агрообъединении «Кубань» Усть - Лабинского района на МТФ №3, специалисты хозяйства и исследователи КубГАУ методом случайной выборки отобрали 69 коров и телок – доноров. Отобирали их с

хорошим желтым телом и нормальной маткой, выращенных в хороших условиях питания. Целью исследований было изучение эффективности использования традиционного замороженного семени и сексированного (женского) в процессе получения эмбрионов.

Для достижения поставленной цели нами проведены опыты по использованию обычного замороженного семени быков с высокой генетикой вместо сексированного «женского». Исследования проводились на одной ферме Усть - Лабинского района, куда из стада молочной фермы отобрали доноров – телок и доноров – коров (n=69 голов).

За 2 недели до начала синхронизации коров – доноров и телок - доноров дополнительно к общему рациону включили витамин А (в виде В-каротин). Затем после синхронизации доноров: «день 0» начали суперовуляцию животным (таблица 1). В течение 7 дней они получали препарат СИДР, а затем инъекцию эстрогена два раза в день в течение 5 дней. У доноров – коров и доноров – телок выявляли половую охоту одновременно двумя методами: путем визуального наблюдения наличия течки и с помощью программы AfiMilk, установленной на ферме, по изменению поведения животных.

Выявленных в охоте телок на 9-ый день искусственно осеменяли в два приема: в первый день ввели две дозы спермы, второй раз на 10-ый день – ввели одну дозу замороженного семени.

Таблица 1.-.Схема стимуляции суперовуляции коров - и телок – доноров.

| Дата | Время | Схема стимуляции доноров |
|-------|-------|---|
| -7 | 7 00 | Эстрофантин 3.0 |
| 0 | 7 00 | СИДР введение+ фертагил 2,5 мл |
| 4 | 19 00 | Плюсет 3 мл |
| 5 | 7 00 | Плюсет 3 мл |
| 5 | 19 00 | Плюсет 2 мл |
| 6 | 7 00 | Плюсет 2 мл |
| 6 | 19 00 | Плюсет 1 мл + эстрофантин 3 мл |
| 7 | 7 00 | Плюсет 1 мл +эстрофантин 3 мл |
| 7 | 19 00 | Плюсет 0,5 мл |
| 8 | 7 00 | Плюсет 0,5 мл + сидр аут |
| 9 | 7 00 | Фертагил 2,5 мл + первое осеменение |
| 9 | 19 00 | Второе осеменение + 2,5 фертогила |
| 10 | 7 00 | Третье осеменение |
| 16 | 10 30 | Вымывание эмбрионов + эстрофантин 3 мл на второй день после вымывания |
| Итого | | Плюсет на одно животное -13 мл |

Коров – доноров и телок – доноров первой группы осеменили сексированным семенем, а второй группы – обычным семенем. Каждая спермодоза – соломинка содержала $2 \cdot 10^6$ сперматозоидов. Вымывание эмбрионов проведены нами на 16-й день с использованием нового препарата Евро флаш.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При осеменении доноров использовались 6 разных быков производителей из них от 3 – сексированная сперма и от 3 – обычная (замороженная) сперма. Проанализировали происхождение и генетический потенциал быков, семенем которых осеменяли оставшихся доноров. Молочная продуктивность матерей, используемых быков – производителей варьировала: удой от 11542 кг до 14329 кг, содержание жира в пределах 3,58 – 4,18%; белка – 3,06 до 3,29% соответственно. По

всем женским предкам быков средний уровень генетического потенциала составил по удою – 13963,3кг, содержание жира – 4,06%.

По результатам вымывания и оценки полученных эмбрионов, нами были классифицированы все эмбрионы на четыре класса качества:

- I класс – эмбрионам присваивается оценка отлично, если идеальный эмбрион при вымывании: сферической формы, симметричный с ячейками, одинаковыми по размеру, цвету и текстуре, или эмбрион немного позднего развития. Эмбрионы этого класса считались лучшими для созревания и хранения в жидком азоте в течение длительного периода (рисунок 1).

- II класс хорошее развитие эмбриона, если выглядят моложе на 1 – 2 дня, или имеют дефекты – экранированные клетки в окружающие пространстве, бластомеры различного развития, встречаются некоторые вырожденные клетки и отдельные везикулы. Эмбрионы второго класса выглядят как нормальные, но наш предыдущий опыт показал, что результаты приживаемости пересаженных эмбрионов второго класса реципиентам очень низкие.

- III класс – оценка неудовлетворительная если четко видны аномалии и много дефектов, клетки эвакуированные, вырожденные, разных размеров а также большие и многочисленные везикулы. Третий класс эмбрионов не предлагается к консервации, но может быть немедленно введен реципиентам, даже если показатели беременности при использовании третьего класса эмбрионов являются сомнительными

- IV класс – брак погибшие или дегенерированные, тяжелые аномалии, задержка роста на ранней стадии с вырожденными клетками.

Нами было рассчитано количество эмбрионов полученных от каждого быка. Оценка показала, что от коров – доноров, осеменных обычной спермой, получали от 1 до 42 эмбрионов за одно вымывание. А от доноров, осеменных сексированным семенем, получили от 1 до 22 эмбрионов за одно вымывание.



Рисунок 1: Эмбрионы 1-ого класса, полученные на 7-ой день после осеменения доноров

В таблице 2 представлены показатели эмбрионов, полученных от коров–доноров и телок–доноров при использовании различных быков производителей.

Таблица 2 – Показатели эмбрионов полученных от доноров при использовании разных быков производителей

| Группа опыта | Кличка быка - производителя | Количество доноров, гол | Показатели биометрии | Количество полученных эмбрионов, шт | | | | |
|---------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|---|---------------------------------------|-------------------------------------|---|---|
| | | | | 1-ой класс | 2-ой класс | 3-й класс | 4-й класс | итого |
| Замороженное обычное семя | | | | | | | | |
| 1 | Hosmer | 23 | Lim M±m σ Cv | 1-33 9,04 ±3,59 8,79 97,23 | 0-2 0,26 ±0,25 0,62 238,46 | 0-2 0,13 ±0,19 0,46 353,84 | 0-13 3,48 ±1,59 3,89 111,78 | 4-33 12,91 ±3,43 8,39 64,99 |
| 2 | Hidalgo | 23 | Lim M±m σ Cv | 0- 35 8.89 ±2,95 7,21 81,10 | 0-12 0.79±1,04 2,54 321,52 | 0-2 0.17±0,20 0,49 288,23 | 0-28 2.34±2,38 5,83 249,14 | 3-42 12±3,95 9,66 80,50 |
| 3 | Edify | 7 | Lim M±m σ Cv | 0-17 7.29 ±4,37 5.90 80.93 | 0-0 - - - | 0-0 - - - | 1-25 8.85±7,15 9.65 109.03 | 4-36 16.14±74 11.80 72.97 |
| 4 | В среднем | 3 | Lim M±m σ Cv | 7.29-9.04 8.40±1.08 0.96 11.43 | 0-0.78 0.35±0.45 0.40 114.28 | 0-0.17 0.10±0.11 0.10 100 | 2.35-8.86 4.90±3.94 3.48 71.02 | 12-16.14 13.68±2.45 2.17 88.96 |

| Сексированное семя | | | | | | | | |
|--------------------|-----------|---|-----------------------|---|---|--------------------------------------|--------------------------------------|--|
| 1 | Течно | 3 | Lim M±m σ Cv | 3-14 7.67±6,43 5,68 74,05 | 1-4 3.33±1,73 1,53 45,94 | 0-0 0 | 0-6 2.67±3,45 3,05 114,23 | 7-18 12.67±6,23 5,51 43,49 |
| 2 | скаттг | 5 | Lim M±m σ Cv | 0-14 4.8±5,16 5,89 122,70 | 0-2 0.6±0,78 0,89 148,33 | 0-2 0.4±0,78 0,89 222,50 | 1-8 3±2,55 2,91 97,00 | 1-22 8.8±7,05 8,04 91,36 |
| 3 | Ундадо | 8 | Lim M±m σ Cv | 0-5 2.33±1,20 1,73 74,24 | 0-3 1±0,78 1,12 112,00 | 0-1 0.44±0,50 0,73 165,91 | 0-4 1.78±1,02 1,48 83,14 | 3-8 5.56±1,48 2,13 38,31 |
| 4 | В среднем | 3 | Lim M±m σ Cv | 2.30-7.67 4.92±3.04 2.69 54.67 | 0.60-2.33 1.31±1.02 0.90 68.70 | 0-0.44 0.28±0.27 0.24 85.71 | 1.78-3 2.48±0.71 0.63 25.40 | 5.56-12.67 9.01±4.03 3.56 39.51 |

Оценка качества эмбрионов показала, что в среднем от каждой коровы - донора, осемененной обычной спермой, получено $12,91 \pm 3,43$ эмбрионов в среднем при использовании бык Nosmer, Hidalgo – $12 \pm 3,95$ эмбрионов, Eddify – 16.14 ± 74 эмбриона, а от каждой коровы донора, осеменено сексированным семенем получено $12,67 \pm 6,23$ эмбрионов от быка Течно, $8.8 \pm 7,05$ от быка Скаттг и от Ундадо – $5,56 \pm 1,48$ эмбрионов. Результаты показывают, что наибольшее количество полученных эмбрионов принадлежит к 1-му классу - 8.40 ± 1.08 эмбрионов, второму среди денерированных эмбрионов - 4.90 ± 3.94 эмбрионов. Второй и третий классы эмбрионов ниже при использовании обычной спермы для осеменения доноров. Результаты варьируются от одного быка к другому. Это число варьируется от 1 до 42 эмбрионов, в том числе 35 эмбрионов первого класса получены от одного донора на 1 вымывание.

При использовании обычного семени получено общие количество эмбрионов – $13,68 \pm 2.45$, а при использовании сексированного женского семени – 9.01 ± 4.03 эмбрионов. Количество полученных эмбрионов зависит от быка, используемого для искусственного осеменения доноров, либо при использовании обычной спермы, либо при использовании спермы по признаку пола. Но это число выше при использовании обычной спермы.

Предел изменчивости количества полученных эмбрионов от каждой коровы, осемененной обычным осеменем, был от 12 до 16,14 эмбрионов, при использовании сексированного семени от 5,56 до 12,67.

Количество эмбрионов, полученных при использовании сексированной спермы, варьирует от 1 до 22 эмбрионов с интервалом от 2,30 до 7,67 эмбрионов первого класса и от 1,78 до 3,00 ($2,48 \pm 0,71$ в среднем) мелких эмбрионов. Анализ эмбрионов, полученных в нашем исследовании, показывает, что количество их, полученных от доноров, осемененных обычной спермой, больше, независимо от используемых быков

Результаты наших исследований свидетельствует, что для получения большего количества и лучшего качества эмбрионов, целесообразно осеменять доноров обычным замороженным семенем.

Список литературы

1. Нимбона К. Результаты трансплантации телкам эмбрионов, полученных от айрширской породы / К. Нимбона, Н.И.Куликова, Ж. Буторе, М. Нтунвенимана// Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2019;14(1):66-72
2. Вылей, Кейтлин Элизабет, «Методы повышения качества эмбрионов и скорости восстановления у суперовулированных коров говядины» (2017). Выпускные дипломные работы и диссертации. 15642. P132.
3. Миккола М., Тапонен Дж. Качество и скорость развития эмбрионов, полученных с использованием сортированной по полу и обычной спермы из суперовулированного молочного скота. Териогенология 2017, 87: 135-140.
4. Нимбона К Результаты получения эмбрионов от высокопродуктивных быков в ОАО агрохолдинг "КУБАНЬ" / Нимбона К., Куликова Н.И., Еременко О.Н.//В сборнике: Инновационные технологии в зоотехнии и ветеринарии сборник статей Всероссийской научно-практической конференции. 2019. С. 87-89.
5. Куликова Н. И. Повышение оплодотворяемость коров с использованием новых способов/Н. И. Куликова, О. Н. Елременко, А. С. Стрижов//Сборник статей по материалам X всероссийской конференции молодых ученых посвященной 120 летию И. С. Косенко 25 -30 ноября 2016 г «научное обеспечение агропромышленного комплекса». С. 185 -186.
6. Нимбона К. Отбор и суперовуляция коров доноров и реципиентов при трансплантации эмбрионов / К. Нимбона, Н. И. Куликова, М. В. Мехоношин // Инновация в повышении продуктивности сельскохозяйственных животных. Сборник статей по материалам международной научно-практической конференции. Краснодар, 19 Октября 2017. -С. 123 -129

7. Еременко О.Н. Экстерьерные и продуктивные показатели коров айрширской и голштинской пород в условиях интенсивной технологии / О.Н. Еременко, Н.И. Куликова, А.О. Малахова [и др.]. *Вет., зоотехния и биотехнол.* – 2017, - №1, С. 79-85.

8. Kulikova N.I A New Way to Increase the Fertility of Cows / N. I. Kulikova, A. M. Patieva, A. A. Cherechecha, C. Nimbona // *J. Pharm. Sci. & Res.* Vol. 10(6), 2018, pp.1607-1609.

References

1. Nimbona K. Rezul'taty` transplantacii telkam e`mbrionov, poluchenny`x ot ajrshirskoj porodny` / K. Nimbona, N.I.Kulikova, Zh. Butore, M. Ntunvenimana// *Vestnik Rossijskogo universiteta družby` narodov. Seriya: Agronomiya i zhivotnovodstvo.* 2019;14(1):66-72

2. Vy`lej, Kejtlin E`lizabet, «Metody` povы`sheniya kachestva e`mbrionov i skorosti vosstanovleniya u superovulirovanny`x korov govyadiny`» (2017). Vy`puskny`e diplomny`e raboty` i dissertacii. 15642. P132.

3. Mikkola M., Taponen Dzh. Kachestvo i skorost` razvitiya e`mbrionov, poluchenny`x s ispol`zovaniem sortirovannoj po polu i oby`čnoj spermy` iz superovulirovannogo molochnogo skota. *Teriogenologiya* 2017, 87: 135-140.

4. Nimbona K Rezul'taty` polucheniya e`mbrionov ot vy`sokoproduktivny`x by`kov v OAO agroxolding "KUBAN`" / Nimbona K., Kulikova N.I., Eremenko O.N.//V sbornike: Innovacionny`e texnologii v zootexnii i veterinarii sbornik statej Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii. 2019. S. 87-89.

5. Kulikova N. I. Povy`shenie oplodotvoryaemost` korov s ispol`zovaniem noy`x sposobov/N. I. Kulikova, O. N. Elremenko, A. S. Strizhov//Sbornik statej po materialam X vserossijskoj konferencii molody`x ucheny`x posvyashhennoj 120 letiyu I. S. Kosenko 25 -30 noyabrya 2016 g «nauchnoe obespechenie agropromy`shlennogo kompleksa». S. 185 -186.

6. Nimbona K. Otbor i superovulyaciya korov donorov i recipientov pri transplantacii e`mbrionov / K. Nimbona, N. I. Kulikova, M. V. Mexonoshin // *Innovaciya v povы`shenii produktivnosti sel'skoxozyajstvenny`x zhivotny`x.* Sbornik statej po materialam mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii. Krasnodar, 19 Oktyabr`ya 2017. -S. 123 -129

7. Eremenko O.N. E`kster`erny`e i produktivny`e pokazateli korov ajrshirskoj i golshirskoj porod v usloviyax intensivnoj texnologii / O.N. Eremenko, N.I. Kulikova, A.O. Malaxova [i dr.]. *Vet., zootexniya i biotexnol.* – 2017, - №1, S. 79-85.

8. Kulikova N.I A New Way to Increase the Fertility of Cows / N. I. Kulikova, A. M. Patieva, A. A. Cherechecha, C. Nimbona // *J. Pharm. Sci. & Res.* Vol. 10(6), 2018, pp.1607-1609.