

КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ЗАМОРОЖЕННО-ОТТАЯННОГО СЕМЕНИ (ОБЫЧНОЕ И РАЗДЕЛЕННОЕ
ПО ПОЛУ) У БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ГОЛШТИНСКОЙ
ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ И ВОЗРАСТ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ
ПОЛУЧЕННЫХ ОТ НИХ ТЕЛОЧЕК

А.И. АБИЛОВ, П.Л. КОЗМЕНКОВ, Б.С. ИОЛЧИЕВ, А.В. УСТИМЕНКО

(Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный
исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»)

Проведено исследование по оценке качества замороженно-оттаянного семени с применением метода разделения по полу и традиционным способом в сравнительном аспекте. Считаем, что работа вызовет определенный интерес у специалистов зоотехнического и биологического направления, а также у ветеринарных специалистов. Работа выполнена в ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста и на базе ООО «Агрофирма Заря» Богородского района Нижегородской области в период с 2017 по 2022 гг. с использованием семени от 8 быков-производителей. Для оценки качества семени определяли индекс фрагментации ядерной ДНК (яДНК) в хроматине, активность сперматозоидов оценивали глазомерно и с использованием спермоанализатора Биола АФС-500 (ЗАО «Биола», г. Москва). На основе проведенных исследований установлено, что морфология сперматозоидов зависит от индивидуальных особенностей быков, содержание аномальных сперматозоидов, заготовленных традиционным методом, варьирует от 2 до 8%, а заготовленных методом сексирования – от 4,10 до 15%. Существенная разница между быками наблюдается по индексу фрагментации яДНК – этот показатель варьирует от 2,66 до 8,62% и 8,50 и 28,57% соответственно. Разделение сперматозоидов по полу прямо влияет на качественные показатели, и это приводит к снижению их активности. Данный показатель в семени, заготовленном традиционным методом, на 11,2% выше, чем показатель семени, заготовленном по альтернативной технологии. Число аномальных клеток в семени, разделенном по полу, на 2,2%, больше, чем в заготовленных традиционным методом, доля сперматозоидов с фрагментированной яДНК – больше на 7%. Скорость сперматозоидов в изученных нами дозах семени, заготовленных с использованием технологии разделения по полу сразу после оттаивания, составляла 96–113 мкм/сек., а через 5 ч после инкубации при +38°C в термостате этот показатель снижался до уровня 20–34 мкм/сек. Половое созревание по возрасту телят, полученных от сексированного семени, от рождения до плодотворного осеменения составляет 490 сут., что на 16 сут. больше, чем в I группе, где телочки были получены от семени, замороженного традиционным способом (ТС). Срок плодоношения у телок, рожденных от использования сексированного семени (СС), составил 273 сут., от использования традиционно замороженного семени (ТС) – 275 сут. (на 2 дня больше). Возраст телочек от рождения до первого отела в группе СС составил 762 дня и был на 14,4 сут. больше, чем в группе ТС, который составил 748 сут.

Ключевые слова: сперматозоиды, активность сперматозоидов, скорость движения, индекс фрагментации ДНК в хроматине, сексированное семя, возраст плодотворного осеменения, возраст первого отела, возраст полового созревания.

Введение

Одними из приоритетов интенсификации промышленного животноводства с эффективным ведением племенной работы в настоящее время являются наиболее рациональное применение и реализация генетических ресурсов с использованием классической биотехнологии (искусственное осеменение). Известно, что при искусственном осеменении эякулят разбавляется средой, и его разделяют на дозы. До яйцеклетки доходит небольшое количество сперматозоидов, и это требует всесторонней оценки генетического материала и его рационального использования [2, 17, 25]. Также известно, что на протяжении десятилетий ученые прилагали все усилия, чтобы разработать такие методы оценки качества семени, которые позволили бы более точно определить оплодотворяющую способность и вместе с тем сделать анализ объективным [13, 21, 23, 35].

Интенсификация отрасли животноводства предусматривает максимальное использование биологических возможностей высокоценных быков-производителей [1].

Изучение качественных показателей спермы и их взаимосвязь с оплодотворяющей способностью млекопитающих являются востребованными направлениями современности в искусственном осеменении животных.

Для определения качества семени предложены многочисленные методы анализов, например: оценка качества семени по целостности их мембран и митохондриальной активности [14, 38]; с ультразвуком [4]; по скорости оседания сперматозоидов [8]; по стимуляции дыхания сперматозоидов; по реакции восстановления реазурина (RRT) [26] и спектрофотометрической оценкой RRT [30] по скорости движения сперматозоидов [16, 31, 32]; по определению концентрации и подвижности сперматозоидов лазерным фотометрическим методом с обработкой визуальных изображений [19].

По данным Е.Е. Брагина и др., необходимо разработать новые, более современные методы, точно и объективно показывающие функциональную полноценность сперматозоидов, являющиеся весьма важными для повышения эффективности исследований с целью создания банков семени [7].

И.И. Соколовская, Р.Н. Ойвадис, А.И. Абилов (1981) предлагали акроскопический метод оценки качества семени, который позволяет оценивать интактно полноценные акросомы в сперматозоидах. Метод основан на использовании темнопольного конденсора ОИ-10 вместо фазово-контрастного с использованием 10%-ного медицинского желатина [20].

Большое количество работ посвящено изучению акросомы сперматозоидов и ее значению для успешного оплодотворения [18, 28].

В настоящее время оценка качества и количества семени в основном производится с использованием компьютерной технологии (Computer-assisted sperm analysis, CASA), которая дает обширную информацию о кинетических особенностях эякулята на основе измерения индивидуальных траекторий сперматозоидов [15].

Необходимость более точного и корректного определения качественных показателей активности и количественных показателей концентрации сперматозоидов в нативной, и особенно в замороженно-оттаянной сперме, обусловлена высокой технологичностью процесса криоконсервации, удорожанием генетического материала, применением спермы, разделенной по полу X или Y-хромосомой, и в связи с этим – переходом на однократное осеменение.

Е.Е. Брагина и Е.Н. Бочарова считают, что изучение морфофункционального состояния сперматозоидов раскрывает понимание морфологии самого сперматозоида и является показателем полноценности сперматозоидов в процессе не только оплодотворения, но и эмбриогенеза [6].

В последние десятилетия интенсивно проводятся научно-исследовательские работы по изучению фрагментации яДНК сперматозоидов в хроматине. Хроматин – структурная единица клеточного ядра, составляющая основу хромосом. Базовыми компонентами хроматина клетки служат 30–40% ДНК, 30–50% – гистоны, от 4 до 33% – негистоновые белки.

Исследования показывают, что около 50% возможностей дальнейшего развития эмбриона после оплодотворения зависят от состояния хроматина сперматозоида, который обеспечивает сохранение биологической полноценности сперматозоидов и содержащейся в нем яДНК и регулирует функциональную активность генома [3, 5].

Исследования также показывают, что фрагментация яДНК в сперматозоидах человека может стать причиной эмбриональной смертности [29]. Установлено, что имеется взаимосвязь между состоянием хроматина в мужских половых клетках и их оплодотворяющей способностью [33]. Отрицательная корреляция между степенью фрагментации яДНК хроматина и фертильностью имеется не только у человека, но и у животных.

По данным Б.С. Иолчиева и др., у быков-производителей доля сперматозоидов с нарушениями целостности ДНК в хроматине в среднем составляет $11,90 \pm 1,97\%$ и в зависимости от индивидуальной особенности варьирует от 0,96 до 80% [12].

В.А. Багиров и др. предлагают разработать новый тест, позволяющий оценить фертильность быков-производителей на уровне молекулярной структуры хроматина в сперматозоидах, в технологии искусственного осеменения крупного рогатого скота [3].

Кроме того, известно, что прогресс в животноводстве невозможен без грамотной и научно обоснованной организации по воспроизводству сельскохозяйственных животных [1]. В то же время эффективное ведение племенной работы на современном этапе невозможно без применения новых прогрессивных методов. Так, как в последнее десятилетие отмечается негативная тенденция по сокращению маточного поголовья во всех регионах РФ с увеличением продуктивности маточного поголовья, что и привело к снижению воспроизводительной функции коров и первотелок. В результате проявилась ощутимая нехватка ремонтного молодняка.

Кроме того, появились данные о том, что в последнее время рождаемость бычков от семени, замороженного традиционным способом, значительно увеличилась в процентном соотношении по сравнению с рождаемостью телочек [24]. В этом плане в последние десятилетия стало актуальным управление полом в потомстве у сельскохозяйственных животных. По мнению многих отечественных и зарубежных авторов, применение данного метода может позволить животноводам получать особей разного пола в зависимости от цели селекции, ускорять генетический прогресс, увеличивать поголовье телок для ремонта стада на молочных фермах [9, 10]. По мнению авторов, это может стать альтернативным направлением для решения проблемы сокращения маточного поголовья в общественном секторе [34, 37].

Дополнительные преимущества могут включать в себя отвлечение ресурсов от необходимости производить замену телок на более прибыльные предприятия, повышение способности управлять замкнутым и закрытым стадом, что повысит биобезопасность стада и улучшит его благосостояние за счет снижения частоты дистосии [22, 27]. В таком контексте с учетом того, что сексированное семя и методы его получения имеют ряд недостатков по технологическим аспектам, назрела необходимость изучить качественные показатели сексированного семени и его взаимосвязь с воспроизводством в целом.

Таким образом, вышеизложенное позволяет сделать вывод о необходимости проведения комплексной оценки качества семени у самцов на основе современных и более точных методов исследования.

Актуальность данного исследования заключается в том, что в современном высокопродуктивном молочном животноводстве на промышленной основе часто наблюдается значительное снижение воспроизводительной способности коров. Это определяет остроту проблемы получения большого количества телочек и обеспечения стада высококачественным ремонтным молодняком. Применение сексированного семени может обеспечить хозяйство собственным маточным поголовьем и позволить, помимо этого, продажу высокоценных племенных телок и нетелей.

Кроме того, использование сексированного семени на должном уровне с помощью высококвалифицированных специалистов может способствовать формированию в хозяйствах защитных и закрытых стад маточного поголовья. В свою очередь, это повысит биобезопасность стада и улучшит его благосостояние за счет снижения микробной и бактериальной обсемененности, которая часто возникает при покупке телок и нетелей из разных регионов, стран, континентов для обеспечения ремонтным молодняком.

Цель исследований: оценка качества замороженно-оттаянного семени быков-производителей голштинской черно-пестрой породы, заготовленного разными способами, в сравнительном аспекте, с использованием современных методов оценки, и возраста полового созревания полученных от них телочек.

Материал и методы исследований

Работа выполнена в ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста и на базе ООО «Агрофирма Заря» Богородского района Нижегородской области. Для исследований использованы образцы замороженного семени от 8 быков-производителей. Образцы исследованы трехкратно, от каждого быка по 3 дозы семени, заготовленных традиционным способом (ТС), и по 3 дозы, разделенных по полу (СС). Всего было изучено 39 образцов семени (15 доз, заготовленных традиционным способом, и 24 дозы, разделенных по полу семени).

Для прогнозирования фертильности сперматозоидов у быков-производителей изучали качественные характеристики по ГОСТу, а также определяли индекс фрагментации яДНК, скорость движения сперматозоидов сразу после оттаивания и через 5 ч после инкубации при +38°C в термостате. Состояние яДНК в хроматине изучали методом акридин-оранжевого теста (АО-тест) с использованием флуоресцентного микроскопа, оснащенного кубом флуоресцентных фильтров GFP-LEX 460–500 DM 505 BA 510, с окуляром 15х объективом 20х; 40х; 100х [36].

Сперматозоиды отмывали в фосфатно-солевом буфере (PBS) и готовили мазки на предварительно обезжиренных стеклах. Мазки высушивали в течение 10–15 мин при комнатной температуре. Окрашенные образцы исследовали с использованием люминесцентного микроскопа Люмам-ИЗ («Ломо», Россия).

Для регистрации изображений использовали цветную видеокамеру. Индекс фрагментации определяли как отношение числа сперматозоидов с поврежденной яДНК (клетки флуоресцируют в красной области спектра) к общему числу сперматозоидов.

Активность сперматозоидов изучали глазомерно и с помощью спермоанализатора Биола АФС-500 отечественного производства (ООО «Биола», г. Москва). Данный прибор также использовали для определения скорости движения сперматозоидов (мкм/сек.). Метод позволяет быстро и точно выявить все дискриминационные параметры, их патологию и живучесть сперматозоидов с помощью встроенной программы для ветеринарии. Анализатор позволяет автоматически произвести измерения общей концентрации сперматозоидов, подвижность, среднюю скорость сперматозоидов с последовательной подвижностью. Кроме того, прибор позволяет архивировать материалы по исследованию с сохранением даты и времени, с сопровождением работы под управлением компьютера [13].

На следующем этапе изучали телочек, полученных от традиционно замороженного семени и от семени, разделенного по полу, а точнее – возраст их полового созревания. После созревания этих телок осеменяли ректоцервикальным способом – семенем, заготовленным традиционным методом. Изучали срок плодношения, возраст первого отела и живую массу рожденных телят в зависимости от пола и в среднем по группе.

Полученные данные были статистически обработаны с использованием пакета прикладных компьютерных программ Microsoft Office (Microsoft Excel) с учетом средних (M) и стандартных ошибок (m), а также вариабельности амплитуды показателей (min-max).

Результаты и их обсуждение

Анализ качества заготовленного семени проводили в зависимости от индивидуальной особенности быков-производителя и с учетом способов заготовки спермопродукции.

Были использованы образцы от 8 быков-производителей. От каждого быка было исследовано по 3 дозы семени с трехкратным повторением, от каждого образца подсчитано по 300 сперматозоидов. Семя от 5 быков было параллельно изучено в зависимости от способов заготовки. Дополнительно исследовано семя еще от 3 быков, образцы которых были заготовлены только методом сексирования. Данные исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1

Индивидуальные качественные показатели замороженно-оттаянного семени, заготовленного разными способами (300 сперматозоидов в каждой дозе семени)

Кличка быка	Способ заготовки	Активность сперматозоидов по методу CASA, %	Морфофункциональная оценка сперматозоидов (анормальные клетки, %)	Индекс фрагментации (DFI), %
Sully Alta Mero	TC	48,28	6,0	5,35
	CC	30,00	-	14,4
Bonaz A. Roboto	TC	37,50	8,0	2,66
	CC	38,10	10,0	8,62
Кр. Аск. А. Legal	TC	45,00	7,0	8,50
	CC	28,57	15,0	3,03
Bush. Bros. A. Cood	TC	33,30	6,0	8,62
	CC	21,1	11,0	9,09
Peak A. TooHot	TC	48,94	2,0	1,28
	CC	28,57	12,0	16,00
A. Buggu	CC	34,14	6,56	6,32
A. Entrust ET	CC	27,30	5,13	11,86
A. Emirates ET	CC	43,70	4,10	28,57

Анализ данных таблицы показывает, что качественные показатели семени тесно связаны с индивидуальными особенностями быков-производителей. Подвижность сперматозоидов после замораживания-оттаивания варьирует от 33,3 до 48,94% в зависимости от быка-производителя. Содержание аномальных сперматозоидов в изученных дозах составило от 2 до 8% с индексом фрагментации я-ДНК в сперматозоидах от 1,3 до 8,6%. Все эти показатели были зафиксированы в семени, криоконсервированном традиционным способом.

Семя, заготовленное с применением сексирования, имело иную картину, то есть качественные показатели были несколько ниже, и это отклонение составило от 12,2 до 20,4% в зависимости от индивидуальности быка-производителя, варьируясь между 21,1 и 43,7%.

Процент аномальных сперматозоидов в изученном нами семени, замороженном после разделения по полу, варьировался между 4,1 и 15% в зависимости от индивидуальных особенностей быка. Это ниже от 2 до 10% по сравнению с показателями семени, заготовленного традиционным способом.

Индекс фрагментации яДНК в сперматозоидах в замороженно-оттаянном семени, заготовленном с применением сексирования, был намного больше, чем у семени, замороженного традиционным способом.

Вариабельность индекса фрагментации яДНК сперматозоидов в сексированном семени, в зависимости от индивидуальных способностей отдельных быков-производителей, варьировалась между 3,03 и 28,6%. Расхождения показателей по индексу фрагментации яДНК в дозах семени у быков-производителей, замороженного традиционным способом и разделенном по полу, были повышены на 6–15%: у быка Sulli A. Mercı эти расхождения составили более чем 9% (14,4 против 5,4% в ТС); у быка Peak A. TooHot – больше, чем на 14,7% (16 против 1,3% в ТС).

Таким образом, выявлено, что активность сперматозоидов в процессе разделения по полу снижается в среднем на 12–20%. В то же время увеличивается процент аномальных сперматозоидов (в изученных нами дозах семени) от 2 до 10%, а также увеличивается процент индекса фрагментации на 6–15%.

Среднестатистические показатели (M+m) семени в зависимости от их подготовки к замораживанию (ТС, n = 5; СС, n = 8) представлены в таблице 2.

Таблица 2

Показатели качества семени быков-производителей голштинской черно-пестрой породы в зависимости от их заготовки

Группы	Подготовка семени к замораживанию	Кол-во изученных быков-производителей, n	Подвижность по CASA, %	Из них аномальные сперматозоиды, %	Индекс фрагментации, %
I	СС	8	31,43±7,01	7,97±4,89	12,31±7,87
II	ТС	5	42,61±6,89	5,80±2,28	5,28±3,33
Разница	-	-	-11,18	+2,17	+7,03
В среднем	-	-	35,73±8,75	7,14±4,11	9,61±7,24

Из данных таблицы следует, что активность сперматозоидов после замораживания-оттаивания находится в среднем на уровне 36%. Образцы семени, заготовленного с помощью сексирования, имели подвижность меньше, чем на 11,2%,

и составили $31,43 \pm 7,01\%$ в отношении семени, заготовленного традиционным способом, у которого подвижность составила в среднем $42,6 \pm 6,9\%$.

Содержание аномальных сперматозоидов в среднем составило $7,14\%$. Семя, заготовленное с помощью сексирования, имело больше аномальных сперматозоидов, что составило около 8% . В то же время семя, заготовленное традиционным способом, имело в образцах на $2,2\%$ меньше аномальных сперматозоидов и составило $5,8\%$.

По индексу фрагментации яДНК в хроматине сперматозоиды, разделенные по полу, имели больший процент фрагментации, и он составил в среднем $12,3 \pm 7,9\%$, что на 7% больше, чем в образцах, заготовленных традиционным способом, у которых данный показатель в среднем составил $5,3 \pm 3,3\%$.

На следующем этапе исследований был проведен анализ качества семени 3 быков-производителей, замороженного после разделения сперматозоидов по полу. Качество семени было изучено с помощью глазомерной оценки под микроскопом и с использованием спермоанализатора отечественного производства (Биола АФС-500, ООО «Биола», г. Москва). Активность определяли сразу же после оттаивания и через 5 ч после инкубации при $+38^\circ\text{C}$ в термостате. Данные исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3

Качественные показатели семени, замороженного с помощью сексирования, у быков-производителей голштинской черно-пестрой породы (трехкратные повторения)

Кличка быка	Показатели семени			
	Глазомерная оценка подвижности, %	Общее число сперматозоидов, млн/мл	Скорость движения оттаянных сперматозоидов с помощью Биолы АФС-500, мкм/сек.	
			сразу после оттаивания	через 5 ч после инкубации при $+38^\circ\text{C}$ в термостате
Бык А. Entrust	$35,0 \pm 3,42$	$5,92 \pm 0,45$	$106,0 \pm 12,51$	$31,9 \pm 3,64$
Бык А. Buggy ET	$28,8 \pm 3,15$	$6,51 \pm 0,87$	$95,6 \pm 36,40$	$34,1 \pm 2,50$
Бык А. Emirates	$41,67 \pm 3,07$	$8,37 \pm 1,1$	$113,13 \pm 34,14$	$19,83 \pm 2,03$

Из данных таблицы следует, что число сперматозоидов в 1 мл составляет 6–8 млн со скоростью их движения на уровне 96–113 мкм/сек. сразу после оттаивания.

Необходимо отметить, что все качественные признаки показали зависимость от индивидуальных особенностей быка-производителя. Однако у всех быков через 5 ч после оттаивания при инкубации с температурой $+38^\circ\text{C}$ в термостате скорость движения существенно снижалась. Это снижение составило от 64 до 82% в зависимости от быка-производителя.

На следующем этапе изучали некоторые показатели воспроизводительной способности телочек в зависимости от способа заготовки семени.

Телочек, полученных от сексированного и традиционного семени, после полового и физиологического созревания осеменяли семенем, замороженным традиционным способом, ректоцервикально. Учитывали возраст плодотворного осеменения (сут.) и возраст первого отела. Далее изучали живую массу телят, полученных от телок, которые родились от сексированного семени, и от телок, рожденных от семени, замороженного традиционным методом. Определяли число родившихся самок и самцов в процентах, а также живую массу в зависимости от пола (табл. 4).

Таблица 4

**Возраст полового созревания телок, рожденных от разделенной по полу
и обычной спермы (после замораживания и оттаивания)
в условиях Нижегородской области, и живая масса телят, полученных от них**

Показатели		Исследуемые параметры	Группы		Разница, ±
			СС	ТС	
Количество телок		n	14	46	—
Возраст плодотворного осеменения, сут.		M+m	489,54±21,48	473,33±8,84	+16,21
		Min-max	426–681	426–681	—
Срок плодоношения, сут.		M+m	273,1±2,15	274,7±0,77	-1,7
		Min-max	266–281	259–284	—
Возраст первого отела, сут.		M+m	762,4±21,45	748,0±8,84	+14,4
		Min-max	694–959	695–957	—
Количество полученных телят		n	14	46	
Живая масса телят при рождении в среднем, кг		M+m	35,23±1,75	34,19±0,77	+1,04
		Min-max	24–50	22–43	—
Из них:	самок	n –%	8–57,14	32–69,60	-12,46
	самцов	n –%	5–35,71	11–30,43	+5,28
	м/р	n –%	1–7,14	3–6,52	+0,49
Живая масса самцов при рождении		M+m	39,6±2,74	36,91±1,56	+2,7
		Min-max	34–50	27–43	—
Живая масса самок при рождении		M+m	32,5±1,74	33,25±0,81	-0,75
		Min-max	24–40	22–42	—

Из таблицы 4 следует, что телята, рожденные от сексированного семени, достигали возраста плодотворного осеменения на 16,21 сут. позже в отличие от телочек, которые родились от осеменений традиционным семенем (489,54 и 473,33 сут. соответственно). По вариабельности данного показателя разница не зафиксирована. Срок плодоношения был почти одинаковым, с 1,7 сут. разницы в сторону увеличения у телок, рожденных от традиционного семени (273 и 274,7 сут. соответственно).

Возраст первого отела в группе СС составил на 14,4 сут. больше в сравнении с группой ТС (762, 4 и 748,0 соответственно).

В среднем вес телят, рожденных от телок, полученных от СС и ТС, составил 35,2 и 34,2 кг соответственно. Из них самцов в группе СС – 35,7%, в группе ТС – 30,43%; самок – 57,14 и 69,6% соответственно, то есть телки, осемененные обычным семенем,

после полового созревания в группе СС родили на 12,5% меньше самок по сравнению с группой ТС с живой массой при рождении 32,5 и 33,25 кг соответственно. Живая масса самцов при рождении в этих группах имела следующие показатели: в группе СС – 39,6 кг; в группе ТС – 36,9 кг; в группе СС – на 2,7 кг больше, чем в группе ТС.

Выводы

Таким образом, установлено снижение некоторых качественных показателей – таких, как морфология сперматозоидов, увеличение индекса фрагментации яДНК в хроматине, снижение активности и скорости сперматозоидов в семени, заготовленном СС. Однако все эти показатели не имеют достоверной разницы. Поэтому необходимым является продолжение исследований в области разделения спермы по полу с целью усовершенствования данной технологии.

Считаем, что полученные данные можно учитывать при работе с СС и при прогнозировании дальнейшей селекционной программы.

На наш взгляд, полученные по рождаемости телят и их живой массе данные несут констатирующий характер и не могут быть интерпретированы для всеобъемлющего вывода, так как для этой цели необходимо провести более глубокие исследования, а также использовать большее количество животных.

Библиографический список

1. Абилов А.И., Племяшов К.В., Комбарова Н.А., Пыжова Е.А., Решетникова Н.М. Некоторые аспекты воспроизводства крупного рогатого скота. – СПб.: Проспект Науки, 2019. – 304 с.
2. Амерханов Х.А., Янчуков Н., Ермилов А., Харитонов С. Особенности селекции крупного рогатого скота молочного направления продуктивности в Российской Федерации // Молочное и мясное скотоводство: Спецвыпуск. – 2012. – С. 15–17.
3. Багиров В.А., Кононов В.П., Иолчиев Б.С., Кленовицкий П.М., Эрнст Л.К. Биологическая полноценность сперматозоидов и состояние хроматина: методы контроля // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 2. – С. 3–15.
4. Бондарев Г.Ф. Определение оплодотворяющей способности спермы быков-производителей с помощью ультразвука // Доклады советских ученых к VI Международному конгрессу по размножению и искусственному осеменению животных. – М., 1968. – С. 11–13.
5. Борунова С.М., Иолчиев Б.С., Абрамов П.Н., Бадмаев О.Э., Таджиева А.В., Рибченко А.С. Эффективный метод определения целостности акросомы сперматозоида у быков-производителей // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2017. – № 4. – С. 29–34.
6. Брагина Е.Е., Бочарова Е.Н. Количественное электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов при диагностике мужского бесплодия // Андрология и генитальная хирургия. – 2014. – № 1. – С. 54–63.
7. Брагина Е.Е., Рудиева Е.А., Сорокина Т.М. Фрагментация ДНК в сперматозоидах и ее взаимосвязь с нарушением сперматогенеза // Андрология и генитальная хирургия. – 2014. – № 4. – С. 26–33.
8. Вагентлейтер А.В. Скорость оседания сперматозоидов как показатель оплодотворяющей способности спермы быков // Бюллетень ВНИИ разведения и генетики с.-х. животных. – 1978. – Вып. 33. – С. 15–17.
9. Головань В.Т., Юрин Д.А., Кучерявенко А.В., Авдалова А.Т. Сравнение роста и развития телят, полученных от сексированной и обычной спермы // Проблемы

и перспективы развития современной репродуктивной технологии, криобиологии и их роль в интенсификации животноводства: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Открытия № 103 и памяти Л.К. Эрнста. – Дубровицы: ВИЖ, 2017. – С. 299–305.

10. *Донченко А.С., Солощенко В.А., Клименок И.И.* Использование сексированного семени в молочном скотоводстве // Аграрная наука – сельскохозяйственное производство Сибири, Казахстана, Монголии, Белоруссии и Болгарии: Материалы XX Международной научно-практической конференции. – Новосибирск: ООО «Печатное издательство Агро-Сибирь», 2017. – С. 149–150.

11. *Жаворонкова Н.В.* Модернизация метода оценки качества спермы и определение степени влияния продолжительности высокотемпературной атмосферной аномалии на спермопродукцию быков-производителей: Автореф. ... дис. канд. с.-х. наук. – Дубровицы, 2014. – 22 с.

12. *Иолчиев Б.С., Багиров В.А., Кленовицкий П.М., Кононов В.П., Таджиева А.В.* Индекс фрагментации ДНК хроматина в сперматозоидах при оценке качества семени у быков-производителей // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 4. – С. 31–35.

13. *Комбарова Н.А., Абилов А.И., Корнеенко-Жилыев Ю.А., Катерская Н.В., Таганкина А.А.* Компьютерный анализ спермы с использованием SFA-500 (импортозамещение) // Проблемы и перспективы развития современной репродуктивной технологии, криобиологии и их роль в интенсификации животноводства: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Открытия № 103 и памяти Л.К. Эрнста. – Дубровицы: ВИЖ, 2017. – С. 134–144.

14. *Кононов В.П., Мамбеталиев М.С.* Морфофункциональная целостность плазматических мембран сперматозоидов как показатель их биологической полноценности // Актуальные проблемы биологии воспроизводства животных: Материалы Международной научно-практической конференции. – Дубровицы-Быково: ВИЖ, 2007. – С. 151–157.

15. *Корнеенко-Жилыев Ю.А., Солер К.* Современный подход к анализу качества и расходу доз семени // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – № S4. – С. 57–59.

16. *Малиновский А.М.* Прогнозирование оплодотворяющей способности спермы барана: Автореф. ... дис. канд. с.-х. наук. – Лесные Поляны, 1994. – 19 с.

17. *Милованов В.К.* Биология воспроизведения и искусственного осеменения с.-х. животных. – М.: Изд-во сельскохозяйственной литературы, журналов и плакатов, 1962. – 696 с.

18. *Никиткина Е.В., Шапиев И.Ш., Олексиевич Е.А.* Использование методов фазовоконтрастной и флуоресцентной микроскопии при оценке качества спермы быков // Роль и значение метода искусственного осеменения сельскохозяйственных животных в прогрессе животноводства XX и XXI: Материалы Международной научно-практической конференции. – Дубровицы: ВИЖ, 2004. – С. 95–97.

19. *Пырикова С.И.* Разработка способа лазерной экспресс-диагностики и криоконсервации семенной жидкости: Автореф. ... дис. канд. техн. наук. – Москва, 2002. – 16 с.

20. *Соколовская И.И., Ойвадис Р.Н., Абилов А.И., Туре У.В., Таг Т.А.* О значении акросомы в оценке семени самцов // Животноводство. – 1981. – № 9. – С. 46–47.

21. *Солер К., Валверде А., Бомпарт Д., Ферейдонфар С., Санчо М., Яниз Х.Л., Гарсия-Молина А., Корнеенко-Жилыев Ю.А.* Новые методы анализа спермы с использованием системы CASA // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52. – № 2. – С. 232–241.

22. *Спанов А.А., Бекенов Д.М.* Интенсификация воспроизводства КРС молочного направления продуктивности на основе применения сексированного семени // Проблемы и перспективы развития современной репродуктивной технологии,

криобиологии и их роль в интенсификации животноводства: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Открытия № 103 и памяти Л.К. Эрнста. – Дубровицы: ВИЖ, 2017. – С. 459–460.

23. Шапиев И.Ш., Мороз Л.Г., Прокопцев В.М. Методы оценки качества спермы животных и прогнозирование ее оплодотворяющей способности // Сельскохозяйственная биология. – 1994. – № 4. – С. 114–122.

24. Шендаков А.И. Влияние быков-производителей и типов их подбора на воспроизводительные качества черно-пестрого и симментальского скота // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – № S4. – С. 159–161.

25. Эрнст Л.К., Субботин А.Д. Искусственное осеменение – главный фактор генетического прогресса и роста продуктивности животноводства. К 100-летию со дня рождения основоположника биологии воспроизведения и технологии искусственного осеменения академика ВАСХНИЛ В.К. Милованова // Материалы Международной научно-практической конференции. – Дубровицы: ВИЖ, 2004. – С. 10–29.

26. Dart M.G., Mesta J., Crenshaw C., Ericsson S.A. Modified resazurin reduction test for determining the fertility potential of bovine spermatozoa // Aich. Audrol. – 1994. – № 33. – P. 71.

27. De Vries A., Overton M., Fetrow J., Leslie K., Eicker S., Rogers G. Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry // J. Dairy Sci. – 2008. – V. 91, № 2. – Pp. 847–856.

28. Druet T., Fritz S., Sellem S., Basso B., Gerard O., Salas-Cortes L., Humblot P., Druart X., Eggen A. Estimation of genetic parameters and genome scan for 15 semen characteristics traits of Holstein bulls // J. Animal Breed. Genet. – 2009 – V. 126, № 4. – Pp. 269–277.

29. Evenson D.P., Jost L.K., Corzett M., Balhorn R. Characteristics of human sperm chromatin structure following an episode of influenza and high fever: a case study // J. Androl. – 2000. – V. 21. – Pp. 739–746.

30. Foote R.H. Resazurin reduction and other tests of semen quality and fertility of bulls // Asian J. Androl. – 1999. – № 1. – P. 109.

31. Gillan L., Kroetsch T., Makwell W.M., Evans G. Assessment of vitro sperm characteristics in relation to fertility in dairy bulls // Animal Reproduction Science. – 2008. – V. 103, № 3–4. – Pp. 201–214.

32. Kathiravan P., Kalatharan J., Karthikeya G., Rengarajan K., Kadirvel G. Objective sperm motion analysis to assess dairy bull fertility using computer-aided system: a review // Reprod. Domestic Animals. – 2011. – V. 46, № 1. – Pp. 165–172.

33. Liu Y., Baker H.W.G. Sperm nuclear chromatin normality: relationship with sperm morphology, sperm-zona pellucida binding, and fertilization rates in vitro // Fertil. Steris. – 1992. – V. 58, № 6. – Pp. 1178–1184.

34. Noonan E.J., Kelly J.C., Beggs D.S. Factors associated with fertility of nulliparous dairy heifers following a 10-day fixed time artificial insemination program with sex-sorted and conventional semen // Aust. Vet. J. – 2016. – V. 94, № 5. – Pp. 145–148.

35. Singh A., Teotia U.V.S., Singh S. Semen evaluation in farm animals // DHR International Journal of Biochemical and Life Sciences (DNR-IYBLS). – 2012. – Vol. 2, № 1. – Pp. 35–42.

36. Tejada R.J., Mitchell J.C., Norman A. Marik J.J., Friedma S. A test for the practical evaluation of male fertility by acridine orange (AO) fluorescence // Fertil. Steril. – 1984. – Vol. 42, № 1. – Pp. 87–91.

37. Walsh D.P., Fahey A.G., Mulligan F.J., Wallace M. Effects of herd fertility on the economics of sexed semen in a high-producing pasture based dairy production system // Journal of Dairy Science. – 2021. – V. 104, № 3. – Pp. 3181–3196.

38. Zuge R.M., Bertolla R.P., Nichi T.B.S., Cortada C.N.M., Bols P.E.J., Barnabe V.H. Correlation between bovine sperm membrane integrity and mitochondrial activity in *Bos taurus* bulls // Proc. 16-th International Congress on Animal Reproduction. – Budapest: Hungary, 2008. – P. 172.

QUALITATIVE CHARACTERISTICS
OF FROZEN-THAWED SEMEN (NORMAL AND SEXED) FROM SIRE
OF THE HOLSTEIN BLACK-AND-WHITE BREED AND THE AGE
OF PUBERTY OF THE HEIFERS BORN FROM THEM

A.I. ABILOV, P.L. KOZMENKOV, B.S. IOLCHIEV, A.V. USTIMENKO

(Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst)

A study was carried out to assess the quality of frozen-thawed semen using the sex separation method and the traditional method in a comparative aspect, and the authors believe that the work will be of some interest to specialists in zootechnical and biological fields, as well as to veterinary specialists. The work was carried out at the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst and on the basis of LLC "Agrofirma Zarya", Bogorodsky district, Nizhny Novgorod region in the period from 2017 to 2022. Using the semen of eight sires. To assess the quality of the semen, the index of nuclear DNA fragmentation (nDNA) in chromatin was determined, and the activity of spermatozoa was assessed visually and using the Biola AFS-500 sperm analyser (ZAO Biola, Moscow). On the basis of the studies conducted, it was found that the morphology of the spermatozoa depends on the individual characteristics of the sires; the content of abnormal spermatozoa varies from 2 to 8% when collected by the traditional method and from 4.10 to 15% when collected by the sexing method. A significant difference between the sires is observed in the iDNA fragmentation index – this indicator varies from 2.66 to 8.62% and from 8.50 to 28.57%, respectively. The division of spermatozoa by sex has a direct effect on the quality indicators, leading to a decrease in their activity. This indicator is 11.2% higher in semen obtained by the traditional method than by the alternative technique. The number of abnormal cells in the semen divided by sex is 2.2% higher than in the semen collected by the traditional method, and the proportion of spermatozoa with fragmented iDNA is 7% higher. The velocity of spermatozoa in the studied doses of semen collected using the technique of sex separation was 96–113 $\mu\text{m/s}$ immediately after thawing, and five hours after incubation at +38°C in a thermostat this indicator decreased to the level of 20–34 $\mu\text{m/s}$. The age of puberty of their calves obtained from the sexed semen from birth to fruitful insemination is 490 days, which is 16 days more than in group I, where heifers were obtained from the semen frozen in the traditional way (TS). The term of fruiting in heifers born from the use of the sexed semen (SS) was 273 days, while that of heifers born from the use of traditionally frozen semen (TS) was 275 days (2 days more). The age of heifers from birth to first calving in the SS group was 762 days and was 14.4 days more than in the TS group, which was 748 days.

Key words: spermatozoa, spermatozoa activity, spermatozoa velocity, DNA fragmentation index in chromatin, sexed semen, age of fruitful insemination, age of first calving, age of puberty.

References

1. Abilov A.I., Plemyashov K.V., Kombarova N.A., Pyzhova E.A., Reshetnikova N.M. Some aspects of cattle reproduction. St. Petersburg: Prospect Nauki, 2019: 304. (In Rus.)
2. Amerkhanov H.A. Yanchukov N., Ermilov A., Kharitonov S. Features of cattle breeding of dairy productivity in the Russian Federation. Journal of Dairy and Beef Cattle Breeding. 2012; special issue: 15–17. (In Rus.)

3. *Bagirov V.A., Kononov V.P., Iolchiev B.S., Klenovitskiy P.M., Ernst L.K.* Biological usefulness of spermatozoa and the state of chromatin: control methods. *Agricultural Biology*. 2012; 2: 3–15. (In Rus.)
4. *Bondarev G.F.* Determination of the fertilizing ability of the sperm of breeding bulls using ultrasound. *Doklady sovetskikh uchenykh k VI mezhdunarodnomu kongressu po razmnozheniyu i iskusstvennomu osemeneniyu zhivotnykh*. Moscow, 1968: 11–13. (In Rus.)
5. *Borunova C.M., Iolchiev B.S., Abramov P.N., Badmaev O.E., Tadzhiyeva A.V., Ribchenko A.S.* An effective method for determining the integrity of the sperm acrosome in breeding bulls. *Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya*. 2017; 4: 29–34. (In Rus.)
6. *Bragina E.E., Bocharova E.N.* Quantitative electron microscopic examination of spermatozoa in the diagnosis of male infertility. *Andrology and Genital Surgery*. 2014; 1: 54–63. (In Rus.)
7. *Bragina E.E., Rudieva E.A., Sorokina T.M.* DNA fragmentation in spermatozoa and its relationship with the violation of spermatogenesis. *Andrology and Genital Surgery*. 2014; 4: 26–33. (In Rus.)
8. *Vagentleiter A.B.* The rate of settling of spermatozoa as an indicator of the fertilizing ability of sperm of bulls. *Byulleten' VNII razvedeniya i genetiki s.-kh. zhivotnykh*. 1978; 33: 15–17. (In Rus.)
9. *Golovan' V.T., Yurin D.A., Kucheryavenko A.V., Avdalova A.T.* Comparison of growth and development of calves obtained from sexed and ordinary sperm. *Problemy i perspektivy razvitiya sovremennoy reproduktivnoy tekhnologii, kriobiologii i ikh rol' v intensivatsii zhivotnovodstva: Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashch. 70-Letiyu otkrytiya No.103 i pamyati L.K. Ernsta*. Dubrovitsy: VIZh, 2017: 299–305. (In Rus.)
10. *Donchenko A.S., Soloshchenko V.A., Klimenok I.I.* The use of sexed seed in dairy cattle breeding. *Agrarnaya nauka – sel'skokhozyaystvennoe proizvodstvo Sibiri, Kazakhstana, Mongolii, Belorussii i Bolgarii: Materialy XX Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Novosibirsk: OOO "Pechatnoe izdatel'stvo Agro-Sibir", 2017: 149–150. (In Rus.)
11. *Zhavoronkova N.V.* Modernization of the method of assessing the quality of sperm determination of the degree of influence of the duration of high-temperature atmospheric anomaly on the sperm production of bulls-producers: CSc (Ag) thesis: 03.03.01. Dubrovitsy, Moscow region, 2014: 22. (In Rus.)
12. *Iolchiev B.S., Bagirov V.A., Klenovitskiy P.M., Kononov V.P., Tajieva A.V.* Index of chromatin DNA fragmentation in spermatozoa when assessing seed quality in breeding bulls. *Agricultural Biology*. 2012; 4: 31–35. (In Rus.)
13. *Kombarova N.A., Abilov A.I., Korneenko-Zhilyaev Yu.A., Katerskaya N.V., Tangankina A.A.* Computer analysis of sperm using SFA-500 (import substitution). *Problemy i perspektivy razvitiya sovremennoy reproduktivnoy tekhnologii, kriobiologii i ikh rol' v intensivatsii zhivotnovodstva: Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashch. 70-Letiyu otkrytiya No.103 i pamyati L.K. Ernsta*. Dubrovitsy: VIZh, 2017: 134–144. (In Rus.)
14. *Kononov V.P., Mambetaliev M.S.* Morphofunctional integrity of plasma membranes of spermatozoa as an indicator of their biological usefulness. *Aktual'nye problemy biologii vosproizvodstva zhivotnykh: Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Dubrovitsy-Bykovo: VIZ, 2007: 151–157. (In Rus.)
15. *Korneenko-Zhilyaev Yu.A., Soler K.* A modern approach to the analysis of the quality and consumption of seed doses. *Problems of Productive Animal Biology*. 2011; S4: 57–59. (In Rus.)
16. *Malinovskiy A.M.* Prediction of the fertilizing ability of sheep sperm. CSc (Ag) thesis: 06.02.01. Lesnye Polyany, 1994: 19. (In Rus.)

17. *Milovanov V.K.* Biology of reproduction and artificial insemination of agricultural animals. M.: Izd-vo s.-kh. literatury, zhurnalov i plakatov, 1962: 696. (In Rus.)
18. *Nikitkina E.V., Shapiev I.Sh., Oleksievich E.A.* The use of phase contrast and fluorescence microscopy methods in assessing the quality of sperm of bulls. Rol' i znachenie metoda iskusstvennogo osemneniya s.-kh. zhivotnykh v progresse zhivotnovodstva XX i XXI: Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Dubrovitsy: VIZh, 2004: 95–97. (In Rus.)
19. *Pyrikova S.I.* Development of a method for laser express diagnostics and cryopreservation of seminal fluid. CSc (Eng) thesis: 05.11.17. Moscow, 2002: 16. (In Rus.)
20. *Sokolovskaya I.I., Oyvadis R.N., Abilov A.I., Ture U.V., Tag T.A.* On the importance of the acrosome in the evaluation of the male seed. Zhivotnovodstvo. 1981; 9: 46–47. (In Rus.)
21. *Soler K., Valverde A., Bompard D., Fereidonfar S., Sancho M., Yaniz H.L., Garcia-Molina A., Korneenko-Zhilyaev Yu.A.* New methods of sperm analysis using the CASA system. Agricultural Biology. 2017; 52; 2: 232–241. (In Rus.)
22. *Spanov A.A., Bekenov D.M.* Intensification of reproduction of dairy cattle of productivity based on the use of sexed seed. Problemy i perspektivy razvitiya sovremennoy reproduktivnoy tekhnologii, kriobiologii i ikh rol' v intensivatsii zhivotnovodstva: Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashch. 70-Letiyu otkrytiya No.103 i pamyati L.K. Ernsta. Dubrovitsy: VIZh, 2017: 459–460. (In Rus.)
23. *Shapiev I.Sh., Moroz L.G., Prokoptsev V.M.* Methods of assessing the quality of animal sperm and predicting its fertilizing ability. Agricultural Biology. 1994; 4: 114–122. (In Rus.)
24. *Shendakov A.I.* The influence of bulls-producers and types of their selection on the reproductive qualities of black-and-white and simmental cattle. Problems of Productive Animal Biology. 2011; S4: 159–161. (In Rus.)
25. *Ernst L.K., Subbotin A.D.* Artificial insemination is the main factor of genetic progress and growth of livestock productivity. K 100-letiyu so dnya rozhdeniya osnovopolozhnika biologii vosproizvedeniya i tekhnologii iskusstvennogo osemneniya akademika VASKhNIL B.K. Milovanova. Materialy Mezhdunarodnoy Nauchno-Prakticheskoy Konferentsii. Dubrovitsy: VIZh, 2004: 10–29. (In Rus.)
26. *Dart M.G., Mesta J., Crenshaw C., Ericsson S.A.* Modified resazurin reduction test for determining the fertility potential of bovine spermatozoa. Aich. Audrol. 1994; 33: 71.
27. *De Vries A., Overton M., Fetrow J., Leslie K., Eicker S., Rogers G.* Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. J. Dairy Sci. 2008; 91; 2: 847–856.
28. *Druet T., Fritz S., Sellem S., Basso B., Gerard O., Salas-Cortes L., Humblot P., Druart X., Eggen A.* Estimation of genetic parameters and genome scan for 15 semen characteristics traits of Holstein bulls. J. Animal Breed. Genet. 2009; 126; 4: 269–277.
29. *Evenson D.P., Jost L.K., Corzett M., Balhorn R.* Characteristics of human sperm chromatin structure following an episode of influenza and high fever: a case study. J. Androl. 2000; 21: 739–746.
30. *Foote R.H.* Resazurin reduction and other tests of semen quality and fertility of bulls. Asian J. Androl. 1999; 1: 109.
31. *Gillan L., Kroetsch T., Makwell W.M., Evans G.* Assessment of vitro sperm characteristics in relation to fertility in dairy bulls. Animal Reproduction Science. 2008; 103; 3–4: 201–214.
32. *Kathiravan P., Kalatharan J., Karthikeya G., Rengarajan K., Kadirvel G.* Objective sperm motion analysis to assess dairy bull fertility using computer-aided system: a review. Reprod. Domestic Animals. 2011; 46; 1: 165–172.
33. *Liu Y., Baker H.W.G.* Sperm nuclear chromatin normality: relationship with sperm morphology, sperm-zona pellucida binding, and fertilization rates in vitro. Fertil. Steris. 1992; 58; 6: 1178–1184.

34. Noonan E.J., Kelly J.C., Beggs D.S. Factors associated with fertility of nulliparous dairy heifers following a 10-day fixed time artificial insemination program with sex-sorted and conventional semen. *Aust. Vet. J.* 2016; 94; 5: 145–148.

35. Singh A., Teotia U.V.S., Singh S. Semen evaluation in farm animals. *DHR International Journal of Biochemical and Life Sciences (DNR – IYBLS)*. 2012; 2; 1: 35–42.

36. Tejada R.J., Mitchell J.C., Norman A. Marik J.J., Friedma S. A test for the practical evaluation of male fertility by acridine orange (AO) fluorescence. *Fertil.Steril.* 1984; 42; 1: 87–91.

37. Walsh D.P., Fahey A.G., Mulligan F.J., Wallace M. Effects of herd fertility on the economics of sexed semen in a high-producing pasture based dairy production system. *Journal of Dairy Science.* 2021; 104; 3: 3181–3196.

38. Zuge R.M., Bertolla R.P., Nichi T.B.S., Cortada C.N.M., Bols P.E.J., Barnabe V.H. Correlation between bovine sperm membrane integrity and mitochondrial activity in *Bos taurus* bulls. In: *Proc. 16-th International Congress on Animal Reproduction*. Budapest: Hungary, 2008: 172.

Абилов Ахмедага Имаш оглы, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»; 142132, Российская Федерация, Московская область, г.о. Подольск, пос. Дубровицы, д. 60; e-mail: ahmed.abilov@mail.ru; тел.: (916) 146–41–10

Козменков Петр Львович, соискатель, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»; 142132, Российская Федерация, Московская область, г.о. Подольск, пос. Дубровицы, д. 60

Иолчиев Байлар Садрадин оглы, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»; 142132, Российская Федерация, Московская область, г.о. Подольск, пос. Дубровицы, д. 60; e-mail: baylar1@yandex.ru

Устименко Анна Владимировна, аспирант, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»; 142132, Российская Федерация, Московская область, г.о. Подольск, пос. Дубровицы, д. 60

Ahmed I. Abilov, DSc (Bio), Professor, Chief Research Associate, Cell Engineering Laboratory, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst (60, Dubrovitsy settlement, Moscow region 142132, Russian Federation; phone: (916) 146–41–10; E-mail: ahmed.abilov@mail.ru; ORCID: 0000–0001–6236–8634)

Petr L. Kozmenkov, applicant, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst (60, Dubrovitsy settlement, Moscow region 142132, Russian Federation; phone: (916) 146–41–10; E-mail: ahmed.abilov@mail.ru; ORCID: 0000–0001–6236–8634)

Baylar S. Iolchiev, DSc (Bio), Leading Research Associate, Cell Engineering Laboratory, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst (60, Dubrovitsy settlement, Moscow region 142132, Russian Federation; E-mail: baylar1@yandex.ru; ORCID: 0000–0001–5386–7263)

Anna V. Ustimenko, post-graduate student, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst (60, Dubrovitsy settlement, Moscow region 142132, Russian Federation)