



Основни аспекти при използване на сексирана семенна течност в говедовъдството

Станимир Йотов*, Иван Фасулков, Анатоли Атанасов, Бояна Иванова

Катедра „Акушерство, репродукция и репродуктивни нарушения“,
Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет,
България, Стара Загора 6000, Студентски град
Електронна поща: stanrad@abv.bg

*Кореспондиращ автор

Резюме: Използването на сексирана семенна течност в говедовъдството навлиза с бързи темпове в световен мащаб. Съвременните технологии осигуряват възможност за сортиране на сперматозоидите с приемливо качество на спермата и гарантират производството на животни от желанния пол. Мотиви за използване на този вид семенна течност могат да бъдат необходимост от бързо обновяване на стадото, желание за повишаване на генетичното ниво, изискванията за хуманно отношение към животните и намаляване на разходите за поддържане на екологична устойчивост. Множество фактори на различни нива, като подбор на женските животни за осеменяване и вид на семенната течност, технологични особености на фермата и репродуктивен мениджмънт, оказват влияние върху процента на заплъждане. Настоящият литературен анализ показва, че въвеждането на изкуствено осеменяване със сексирана сперма е ефективен инструмент за ускоряване на генетичния прогрес. Допълнителна полза е подобряване на благосъстоянието и хуманното отношение към животните чрез редуциране на трудните раждания и намалено производство на нежеланите приплоди от мъжки пол. Оптимизирането на броя на животните в стадата води до понижено отделяне на вредни газове и отпадни продукти от животновъдството. Стойността на бременността след осеменяване със сортирана по пол сперма е променлива величина и различни причини могат да доведат до незадоволителни резултати. Това изисква предварителен анализ на техните ефекти и предприемане на мерки за минимизиране на отрицателното им въздействие върху репродуктивния процес. Постигането на икономическа рентабилност е свързано с избор на подходяща стратегия за използване на сексирана сперма при отчитане на специфичните условия в стопанството. Представената информация може да бъде полезна при изготвяне на политики за оптимизиране на репродуктивния процес и устойчиво развитие на говедовъдството в България.

Ключови думи: говедовъдство, сексирана сперма, генетичен прогрес, стратегии

Main aspects in use of sexed semen in cattle breeding

Stanimir Yotov*, Ivan Fasulkov, Anatoli Atanasov, Boyana Ivanova

Department of Obstetrics, Reproduction and Reproductive Disorders,
Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University,
Bulgaria, Stara Zagora 6000, Student Campus
E-mail: stanrad@abv.bg

*Corresponding author

Abstract: The use of sexed semen in cattle breeding becomes increasingly important in worldwide. Up to date sexing technologies provide an ability to sort spermatozoa with acceptable sperm quality and ensure production of animals of the desired sex. Motivation for use of sexed semen can be the need for rapid renewal of the herd, the desire to increase the genetic level, the requirements for animal welfare and the reduction of costs for maintaining ecological sustainability. Many factors at different levels such as selection of female animals for insemination and type of sexed semen, technological features of the farm and reproductive management affect the conception rate. The current literature analysis shows that the introduction of artificial insemination with sexed semen is an effective tool to accelerate genetic progress. An additional benefit is improvement of the animal welfare by reducing difficult births and low production of the undesired male offspring. Optimization of the animal number in the herds leads to reduction of the



greenhouse gases and the waste products from animal husbandry. The pregnancy rate after artificial insemination with sex-sorted sperm is variable and different reasons can lead to unsatisfactory results. This requires a preliminary analysis of their effects and taking measures to minimize their negative impact on the reproductive process. Achievement of economic profitability is related to choosing an appropriate strategy for use of sexed semen, taking into account the specific conditions in the farm. The presented information can be useful in the preparation of various policies for optimization of the reproductive process and development of sustainable cattle breeding in Bulgaria.

Key words: cattle breeding, sexed semen, genetic progress, strategies

Въведение

Технологиите за сексиране на семенна течност позволяват ефективно сортиране на половите гамети по пол [1,2]. При този процес фракциите на сперматозоидите, носещи X-хромозома (женска) и Y-хромозома (мъжка) са селектирани с цел получаване на висок процент приплоди от желания пол. Опитите за сексиране на спермата при преживните животни започват преди много години, но най-голям напредък е отбелязан с разработването и комерсиализацията на метода „Поточна цитометрия“. Тя се основава на клетъчно сортиране, базирано на разликите в ДНК съдържанието на сперматозоидите с X или Y хромозома [3,4,5]. Точността на сортиране е около 85-90% за двата пола, а произведените телета не се различават по параметрите тегло при раждане, интензивност на растеж, смъртност и честота на аномалиите, спрямо приплодите, получени след използване на несексирана семенна течност [1,6]. В редица страни лицензирането на този биотехнологичен метод е в различни етапи на развитие [7]. Днес съществуват множество подобрени варианти на горепосочената биотехнология, позволяващи постигане на повече от 90% точност при сортиране на половите клетки [8,9].

Използването на сексирана семенна течност в говедовъдството стартира през 80-те години на миналия век, след развитието на техниките за изкуствено осеменяване и криоконсервация на сперма, превръщайки се във важен генетичен ресурс за фермите в началото на 90-те години [6,8,9]. Стотици и хиляди приплоди са родени след осеменяване със сексирана сперма, като най-значителна е продукцията в САЩ, Великобритания, Аржентина, Бразилия, Мексико и Австралия [10,11,12]. Центровете за производство на сексиран материал предоставят възможност за избор на конкретни параметри, като свежа и/или замразена сперма, брой сперматозоиди в дозата за осеменяване и клас на бика [1,11,13]. Представеният материал дава обобщена информация за основните аспекти при използване на сексирана семенна течност в говедовъдството след анализ на литературни данни.

Ускоряване на генетичния прогрес чрез използване на сексирана сперма.

Геномната селекция позволява по-ранна идентификация на следващото поколение бици за разплод [14]. Често пренебрегвана, потенциалната полза от осеменяване със сексирана семенна течност води до по-ефективна селекция на кравите. При осеменяване с несексирана сперма, около 90% от генетичния прогрес в направление млечна продукция е резултат от селекция на биците. Приложението на сортирана по пол сперма позволява едновременно селектиране на кравата и бика, а степента на генетичен прогрес се увеличава с 15% [4]. Изкуственото осеменяване с този вид сперма представлява идеална възможност за постигане на ускорен генетичен прогрес и ефективна развъдна дейност в говедовъдството [2,15]. Основно предимство е производството на женски приплоди с

ценни генетични качества в съкратен времеви период. Това може да се реализира чрез осеменяване на женските животни с най-добра генетика със сперма от бици с висок клас. Използване на по-малък брой крави с добри качества за производство на ремонтни юници, съкращава значително времето необходимо за обновяване на стадото [11,16].

Приложението на сексирана семенна течност води до намаляване на броя на кравите, необходими за тестване на потомството и редуцира средния интервал за достигане на женските животни до първа лактация на ниво стадо [2]. В говедовъдните ферми за производство на мляко се предпочитат женски телета, а мъжките се разглеждат като допълнителен продукт [17]. В тази връзка, получаването на телета от точно определен пол задоволява потребностите на фермера [18].

В допълнение към ускорения генетичен прогрес, икономическа рентабилност и устойчиво развитие на фермата се постигат чрез по-висока продажна цена на юниците за мляко, произведени от родители с качествена генетика. Реализира се икономия на средства за отглеждане на родените мъжки приплоди и висока степен на биосигурност при собствено производство на ремонтни женски животни. Осеменяването със сексирана сперма от месодайни породи бици в стада от млечни крави, дава възможност на фермерите да произвеждат телета-кръстоски, които имат много по-добри вкусови качества на месото, в сравнение с чистокръвните телета [19]. Освен това, генетичното ниво на стадото може да се увеличи, когато се използва сперма от месодайни породи при генетично по-ниско продуктивни млечни крави, тъй като потомството на тези крави не влиза в дойното стадо [15]. В сектора месодайно говедовъдство има спешна нужда от подобряване на продуктивността. Това може да се получи при отглеждане на повече юници от висококачествени крави, представляващи идеален вариант за замяна на женските животни и донорите [20]. Ускореният генетичен прогрес улеснява създаването на стада устойчиви на различни производствени системи, особено при сезонно пасищно млекопроизводство. Животните в тях се характеризират с висок добив на мазнини и протеини в млякото, оптимални размери, отлична плодовитост, висока производителност и устойчивост на определени заболявания [14].

Подобряване на благосъстоянието на кравите и хуманното отношение към животните.

Основен приоритет на селекционната дейност е да се надгражда върху известна генетика, но освен за подобряване на генетичния потенциал, сексираната семенна течност има връзка с благосъстоянието на кравите и телетата и хуманното отношение към животните [13,21,22]. В случаите на затруднено раждане при млечните крави, смъртността е с около 57% по-висока при мъжките, отколкото при женските телета [23]. Благосъстоянието на животното по време на трудно раждане и след това е нарушено [2]. Основно изискване при концентриран модел на отелване е кравата бързо да възстанови репродуктивните си способности след раждане, за да се поддържа 365-дневен период между две последователни отелвания. Трудното раждане е рисков фактор за задържане на плацентата, възпалителни процеси на матката, забавено възстановяване на яйчниковата активност и проявата еструс, водещи до нисък процент на заплождаване. Следователно намаляването на честотата на проблемните раждания има както непосредствена, така и косвена полза за здравето и благосъстоянието на млечната крава [4]. Горепосоченото е аргумент за нуждата от осеменяване със сексирана сперма с оглед подобряване на хуманното отношение към животните.

В друг аспект, всяко животно с ниска продажна стойност е потенциален проблем за благосъстоянието, защото ниската цена не стимулира доброто отглеждане. Например, в САЩ само 0.1% от получените телета млечно направление се селектират и използват за донори на семенна течност, което води до свръхпроизводство на мъжки телета с ниска себестойност [24]. В някои страни мъжките телета се използват за производство на телешко месо, но получаването на качествена продукция и прираста остават незадоволителни. Проучване на 242 ферми в Бразилия съобщава, че 35% от фермите са предпочели евтаназия на мъжките приплоди непосредствено след раждането [25].

Използването на сексирана сперма би свело до минимум производството на нежеланите мъжки телета в млечното говедовъдство. По този начин намаляват потенциалните проблеми с хуманното отношение към мъжките приплоди.

Голяма част от донорите на сперма в млечното и месодайно направление са селектирани по признака лекота на отелване, което обуславя понижаване на честотата на мъртвородени телета и трудните раждания. Машабно проучване в Нова Зеландия с юници от месодайно направление установява вариация в загубите причинени от смърт на приплодите в периода от раждане до отбиване (10% за женските срещу 18% за мъжките телета) и отдава това на последствията от затруднения в раждането [26]. За да се намали значително процента на трудните раждания, може да се използват месодайни бици, селектирани за лекота на отелване в комбинация със сексирана сперма, с цел производство на максимален брой женски телета. Допълнителната полза от този вид репродуктивен мениджмънт е по-доброто генетично качество на тези юници, спрямо по-възрастните крави, което предполага те да се оставят за ремонт на стадото [11]. Изкуственото осеменяване със сексирана сперма понижава риска от заразяване с редица заболявания предавани по полов път, като вибриоза, трихомоноза, бруцелоза, инфекциозен ринотрахеит и др., които могат да се разпространяват при покриване на кравите от мъжки разплодници [27].

Редуциране на вредните емисии и ефективно оползотворяване на отпадните продукти от животновъдството.

В унисон със съвременните изисквания за редуциране на вредните емисии и отпадните продукти от животновъдството е отглеждането на по-малък брой крави, но с висока млечна продуктивност във фермите за производство на мляко [28,29]. Наличието на по-малка популация високопродуктивни животни понижава емисиите от вредни газове и позволява по-лесно оползотворяване на торовите маси и отпадните продукти. По този начин околната среда се предпазва от замърсяване и се осигурява устойчиво екологично развитие [30]. Подобно оптимизиране на броя на стадата се постига чрез изкуствено осеменяване на млечни крави със сперма от месодайни бици. Посоченият подход намалява нуждата от родителски стада за производството на месодайни телета и оптимизира растежния капацитет на получените кръстоски [31]. Това би довело до редуциране на въглеродните емисии произведени от сектора месодайно говедовъдство, но предполага използване на селектирана и/или сексирана сперма. От друга страна, наличието на оптимален брой крави във фермата води до по-ефективно управление на персонала и производствения процес и съкращаване на разходите за изхранване и обслужване на голям брой животни [15]. Bell and Jauernik [29] предлагат методология за селекцията на отделни млечни крави и ремонтни юници, базирана на техния потенциал

за увеличаване на рентабилността на стадото и редуциране на въглеродните емисии. Те препоръчват методологията като средство за идентифициране на по-устойчиви животни за дадена среда във фермата. От 370 крави и ремонтни юници, 76% са били класифицирани като устойчиви с желаното увеличение на печалбата и намаляване на въглеродните емисии.

Фактори влияещи върху заплодяемостта и стратегии при използване на сексирана семенна течност.

Въпреки на технологичните постижения при сексиране на спермата, множество фактори могат да доведат до незадоволителни резултати [8,32]. Общоприето е схващането, че в несексираната семенна течност броят на половите гамети с X или Y хромозома е равномерно разпределен.

Сортирането на сперматозоидите осигурява сперматозоиди само с X или Y хромозома, но процедурата изисква време и води до значителна загуба на полови клетки. Част от тях претърпяват различни морфологични и функционални увреждания при обработката. Освен това, високите технологии са скъпоструващи, изискват специални условия за работа и високо квалифициран персонал, което оскъпява производството. Следствие на горепосочените и други причини, броят на сперматозоидите в еднократната доза за осеменяване със замразена сексирана сперма обикновено варира от 2 до 4 милиона, докато при несексиран материал е 20 милиона [6,8,9,33]. Наличието на увреждания на гаметите е причина за по-ниската им преживяемост в половия апарат на женското животно, спрямо необработени сперматозоиди (12-16 часа срещу 24-36 часа). Всичко това е съпроводено с по-нисък процент на заплождане след осеменяване със сексирана, спрямо несексирана семенна течност (50-80% срещу 44-60% за юници и 45-60% срещу 26-50% за крави) [10,34]. Отрицателните ефекти от намалената заплодяемост се засилват при сезонните системи за производство на мляко, тъй като значението на заплодяемостта при този тип на отглеждане е по-голямо, в сравнение със системите за целогодишно отелване [2]. Днес съществуват варианти на поточната цитометрия като SexedULTRA и SexedULTRA-4MTM, осигуряващи по-добро качество на спермата и повишена заплодяемост [34,35].

Реализацията на положителните ефекти от използване на сексирана семенна течност е невъзможна без ефективно управление на репродуктивния процес. Важни индикатори за отчитане на ефективността са заплодяемост от първо осеменяване и брой на изразходваните дози сперма за постигане на една бременност. Тези индикатори зависят от различни фактори, като категория на животните, телесно състояние, вид на използвана семенна течност и други. Силата на влияние в различните говедовъдни стопанства не е една и съща и се обуславя от спецификата на фермата [10,13,35]. Добрите резултати изискват избор на подходящи животни за изкуствено осеменяване със сексирана сперма. Необходимо е юниците да бъдат без отклонения във физическото и репродуктивно здраве, да са полово зрели и проявяват редовна половоциклична дейност. Препоръчително е първото осеменяване със сексирана сперма да се извършва при животни на възраст 14-16 месеца с телесната оценка 3.0-3.25, и по време на спонтанен еструс. Заплодяемостта при лактиращите крави е значително по-ниска, от тази при юниците, поради намаления репродуктивен потенциал на кравите [36,37]. Въпреки това, когато целта е бързо обновяване на стадото и няма подготвени за разплод млади животни, може да се осемяят определен брой крави. Препоръчва се те да бадат от 1 до



3 лактация, да циклират редовно след последното раждане, дните на лактация да бъдат между 60 и 100, а телесната оценка в деня на изкуственото осеменяване да бъде 2.75-3.0 [13,37,38]. Друг много важен елемент е семенната течност да бъде от бик с ценни генетични качества и висока оплодителна способност на сперматозоидите [36]. В някои страни се използва сексирана сперма от бици класифицирани по показателя EBI (Economic Breeding Index). Той дава възможност за определяне на най-рентабилните бици за разплод в млечните стада и се изчислява въз основа на седем подиндекса с различно влияние, като стойността на подиндекса „заплодяемост“ има 33% тежест [39].

Постигането на висока стойност на бременността след осеменяване със сексирана сперма е констатирано само в млечни стада с добър мениджмънт, което предполага фундаментална промяна в стратегията на работа във фермата [21]. С цел получаване на оптимална млечна продукция, добра стратегия е всички налични юници да се осеменят на около 15 месечна възраст, за да родят при достигане на 24-25 месечна възраст.

Това е особено важно при системи, базирани на сезонно пасищно отглеждане, където е желателно да има повече женски телета, отелени в началото на родилната кампания. При системите с целогодишно отелване, юниците могат да бъдат осеменени 3 седмици преди стандартната възраст за първо осеменяване („система за ранно заплождане“). По този начин ще се компенсира по-ниската заплодяемост при използване на сексирана семенна течност, а получаването на висок процент женски телета ще ограничи значително затрудненията в раждането [4]. Според данни на De Vries et al. [24], женските приплоди необходими за ремонт на стадата се осигуряват от приблизително 60% от наличните млечни крави и юници в разплодна възраст, но този брой може да бъде значително намален с целенасочена употреба на сексирана сперма [40,41].

Друг вид стратегия е осеменяването на животните да се извърши в строго определено време след хормонална синхронизация на еструса [42-44]. Основното предимство на тези програми е възможността за предварително планиране на мероприятията, елиминиране на проблемите с откриване на животните в еструс, по-лесна с работата с голяма група животни и възможност за контрол на времето за овулация [45]. Въпреки това, съществуват редица неизяснени въпроси относно влияние на вида на протокола за синхронизация, начина на осеменяване, оптималното време и място за депозиране на спермата и други фактори (възраст, порода, телесна оценка, лактация) върху заплодяемостта [34,46]. Проведено в нашата страна изследване показва, че овариалният статус в деня на фиксираното осеменяване играе важна роля върху заплождането на юниците. Установено е, че предварителното хормонално третиране с начало на 5-дневен прогестерон-базиран протокол 6 дни по-късно, осигурява приемлива стойност на бременността [47]. Детайлна информация за използване на различни стратегии при изкуствено осеменяване със сексирана сперма в нашата страна все още липсва. Анализиране на информацията при малка извадка животни в три ферми за производство на мляко показва, че значително по-голям дял (82%) от животните, осеменени със сексирана сперма са били със спонтанен еструс и само 18% от юниците са били с хормонално индуциран еструс. Животните със спонтанен еструс в 16%, 19% и 65% от случаите, са били съответно на възраст 13, 14 и ≥ 15 месеца, докато в групата с хормонално индуциран еструс разпределението за горепосочените възрасти е било 61%, 15% и 33%. Заплодяемостта при осеменяване след спонтанен еструс е била 63%, а установената след хормонална индукция на еструса 43%, но достоверни разлики не са доказани [48].

В унисон с редуцирания брой сперматозоиди в дозата за осеменяване и нуждата от депозирането им по-близо до мястото на оплождане е създадена иновативната система за дълбоко вътрематочно осеменяване на крави „ExtremiA“ (Фиг. 1). Тя може да се използва успешно за повишаване на заплодяемостта при изкуствено осеменяване със сексиран материал, но изисква предварително обучение за работа с нея на техник-осеменителите и ветеринарните лекари (Фиг. 2).

Обширно проучване по темата в периода 1999-2021 година и биоикономическо моделиране показват, че осеменяването със сортирана по пола сперма в разширяващи се стада увеличава рентабилността на стопанството, независимо от по-ниската заплодяемост [34]. Преди масовото въвеждане на тези технологии е необходимо да бъдат направени допълнителни подобрения, смекчаващи отрицателните ефекти на метода за сексиране върху структурата и функцията на сперматозоидите, с цел осигуряване на висока оплодителна способност. Цената на дозата сперма и апаратурата за сортиране трябва да се намали до ниво, позволяващо приложението на биотехнологията по целия свят.

Консултантските служби трябва да гарантират, че фермерите получават адекватна информация по въпроса, за да се възползват от възможността за производство на кръстоски и млечни крави с по-високи генетични качества [11].



Фиг. 1. Иновативната система за дълбоко вътрематочно осеменяване на крави „ExtremiA“.



Фиг. 2. Обучение на ветеринарни лекари за работа със системата за дълбоко вътрематочно осеменяване на крави „ExtremiA“.

Заклучителният анализ показва, че използването на сексирана семенна течност е важен инструмент за ускорен генетичен прогрес, подобряване на благосъстоянието на кравите и хуманното отношение към животните. Внедряването на изкуствено осеменяване със сексирана спрема дава възможност за редуциране на вредните емисии и по-лесно оползотворяване на отпадните продукти при отглеждането на говеда. Различни фактори оказват влияние върху процента на заплождане, което изисква предварителен анализ на техните ефекти и активна дейност за минимизиране на отрицателното им въздействие върху репродуктивния процес. Постигането на икономическа рентабилност е свързано с избор на подходяща стратегия за използване на сексирана семенна течност при отчитане



на специфичните условия в стопанството. Представената информация може да бъде полезна при изготвяне на различни политики за оптимизиране на репродуктивния процес и устойчиво развитие на говедовъдството в България.

Благодарности

Материалът е изготвен във връзка с изпълнение Национална научна програма „ИНТЕЛИГЕНТНО ЖИВОТНОВЪДСТВО“, финансирана от Министерството на образованието и науката, договор за безвъзмездна финансова помощ №°Д01-62/18.03.2021 г.

Acknowledgments

The presented material was prepared in relation to performance of the National Scientific Program INTELLIGENT ANIMAL HUSBANDRY, founded by the Ministry of Education and Science, grant agreement No. D01-62/18.03.2021.

Литература

1. Seide G.E. (2003). Economics of Selecting for sex: The most important genetic trait. *Theriogenology*, 59, 585-598.
2. Holden S.A., S.T. Butler (2014). Review: Applications and benefits of sexed semen in dairy and beef herds, *Animal*, 1-7.
3. Johnson L.R., G.R. Welch., W. Rens (1999). The Beltsville sperm sexing technology: high-speed sperm sorting gives improved sperm output for in vitro fertilization and AI, *Journal of Animal Science*, 77, 213-220.
4. Weigel K.A (2004). Exploring the role of sexed semen in dairy production systems. *Journal of Dairy Science*, 87, 120-130.
5. Seidel Jr. G.E (2007). Overview of sexing sperm. *Theriogenology*, 68, 443-446.
6. Seidel Jr. G.E (2014). Update on sexed semen technology in cattle, *Animal*, 8, 160-164.
7. Garner D.L. (2006). Flow cytometric sexing of mammalian sperm, *Theriogenology*, 65, 943-957.
8. Garner D.L., G.E. Seidel (2008). History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology*, 69, 886-895.
9. Moore S.G., J.F. Hasler (2017). A 100- year review: Reproductive technologies in dairy science, *Journal of Dairy Science*, 100, 10314-10331.
10. Healy A.A., J.K. House., P.C. Thomson (2013). Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 96, 1905-1914.
11. Boneya G. (2021). Sexed semen and major factors affecting its conception rate in dairy cattle. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 8(1), 99-107.
12. Quelhas J., J. Santiago., B. Matos., A. Rocha., G. Lopes., M. Fardilha (2021). Bovine semen sexing: Sperm membrane proteomics as candidates for immunological selection of X- and Y-chromosome-bearing sperm, *Veterinary Medicine and Science*, 7, 1633-1641.
13. Norman H.D., J.L. Hutchison., R.H. Miller (2010). Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States, *Journal of Dairy Science*, 93, 3880-3890.



14. Calus M.P.L., Y. de Haas., R.F. Veerkamp (2013). Combining cow and bull reference populations to increase accuracy of genomic prediction and genome-wide association studies, *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6703-6715.
15. Ettema J.F., J.R. Thomasen., L. Hjortø., M. Kargo., S. Østergaard., A.C. Sørensen (2017). Economic opportunities for using sexed semen and semen of beef bulls in dairy herds, *Journal of Dairy Science*, 100, 4161-4171.
16. Dominguez J.H.E., D.S. Costa., V.J. Centurion., F.J.C. Faria (2011). Pregnancy rate of Nelore females inseminated with male-sexed semen, *Animal Reproduction Science*, 129, 127-131.
17. Naniwa Y., Y. Sakamoto., S. Toda., K. Uchiyama (2019). Bovine sperm sex-selection technology in Japan, *Reproductive Medicine and Biology*, 18, 17-26.
18. Razmkabir, M.A (2018). field study on the reproductive efficiency of sex-sorted semen in Holstein heifers. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 6(2), 41-46.
19. Wolfová M., J. Wolf., J. Kvapilík., J. Kica (2007). Selection for profit in cattle: II. Economic weights for dairy and beef sires in crossbreeding systems. *Journal of Dairy Science*, 90, 2456-2467.
20. Hall J.B., J.B. Glaze (2014). Review: System application of sexed semen in beef cattle. *The Professional Animal Scientist*, 30(3), 279-284.
21. Butler S.T., I.A. Hutchinson., A.R. Cromie., L. Shalloo (2014). Applications and cost benefits of sexed semen in pasture-based dairy production systems, *Animal*, 8(1), 165-172.
22. Diers S., J. Heise., T. Krebs., J. Groenewold., J. Tetens (2020). Effect of sexed semen on different production and functional traits in German Holsteins, *Veterinary and Animal Science*, 9.
23. Dematawena C.M.B., P.J. Berger (1997). Effect of dystocia on yield, fertility, and cow losses and an economic evaluation of dystocia scores for Holsteins, *Journal of Dairy Science*, 80(4), 754-761.
24. De Vries A., M. Overton., J. Fetrow., K. Leslie., S. Eicker., G. Rogers (2008). Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry, *Journal of Dairy Science*, 91(2), 847-856.
25. Hötzel M.J., C. Longo., L.F. Balcão., C.S. Cardoso., J.H.C. Costa (2014). A survey of management practices that influence performance and welfare of dairy calves reared in Southern Brazil, *PLoS One*, 9(12), 114995.
26. Morris C.A., R.L. Baker., J.C. (1992). Hunter correlated responses to selection for yearling or 18-month weight in Angus and Hereford cattle, *Livestock Production Science*, 30, 33-52.
27. Sharma N., D.K. Chand., S. Rawat., M. Sharma., H. Verma (2018). Effect of sexed semen on conception rate and sex ratio under field conditions, *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(1), 702-705.
28. Bell M.J., R.J. Eckard., J.E. Pryce (2012). Breeding dairy cows to reduce greenhouse gas emissions. *Livestock Production, InTech*, doi:10.5772/50395.
29. Bell M.J., G.M. Jauernik (2023). Selecting the sustainable cow using a customized breeding index: Case study on a commercial UK dairy herd, *Agriculture*, 13, 423.
30. Eory V., M. MacLeod., S. Shrestha., D.J. Roberts (2014). Linking an economic and a life-cycle analysis biophysical model to support agricultural greenhouse gas mitigation policy, *German Journal of Agricultural Economics*, 63(3), 133-142.
31. Hietala P., M. Wolfová., J. Wolf., J. Kantanen., J. Juga (2014). Economic values of production and functional traits, including residual feed intake, in Finnish milk production, *Journal of Dairy Science*, 97, 1092-1106.



32. Thomas J.M., J.W.C. Locke., R.C. Bonacker., E.R. Knickmeyer., D.J. Wilson., R. Vishwanath., A.M. Arnett., M.F. Smith., D.J. Patterson (2019). Evaluation of SexedULTRA 4MTM sex-sorted semen in timed artificial insemination programs for mature beef cows, *Theriogenology*, 123, 100-107.
33. Brito L.R., C. Vishwanath., K. Heuer (2019). Evans. Bovine sexed semen production and utilization, *Clinical Theriogenology*, 11, 297-315.
34. Reese S., M.C. Pirez., H. Steele., S. Kölle (2021). The reproductive success of bovine sperm after sex-sorting: a meta-analysis, *Scientific Reports*, 11, 17366.
35. Popiolek L. (2021). The use of sex-sorted semen in Irish dairy farming, *Veterinary Ireland Journal*, 11(4), 235-240.
36. De Jarnette J.M., R.L. Nebel., C.E. Marshall., J.F. Moreno., C.R. McCleary., R.W. Lenz (2008). Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in Holstein heifers and lactating cows, *Journal of Dairy Science*, 91, 1778-1785.
37. Schenk J.L., D.G. Cran., R.W. Everett., G.E. Seidel (2009). Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm number per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting, *Theriogenology*, 71, 717-728.
38. Yusuf M., T. Nakao., C. Yoshida., S.T. Long., G. Gautam (2011). Ranasinghe, R.M.S. B.K.; Koike, K.; Hayashi, A. Days in milk at first AI in dairy cows; its effect on subsequent reproductive performance and some factors influencing it, *Journal of Reproduction and Development*, 57, 643-649.
39. Ramsbottom G. (2020). Understanding Economic breeding Index (EBI), Teagasc, https://isuu.com/herdplus/docs/understanding_ebipta_bv_spring_2020
40. Hutchinson I.A., L. Shalloo., S.T. Butler (2013). Expanding the dairy herd in pasture-based systems: the role of sexed semen use in virgin heifers and lactating cows, *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6742-52.
41. McCulloch K., D.L. Hoag., J. Parsons., M. Lacy., G.E. Seidel Jr., W. Wailes (2013). Factors affecting economics of using sexed semen in dairy cattle, *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6366-77.
42. Caraviello D.Z., K.A. Wiegel., P.M. Fricke., M.C. Wiltbank., M.J. Florent., N.B. Cook., K.V. Nordlund., N.R. Zwald., C.L. Rawson (2006). Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms, *Journal of Dairy Science*, 89(12), 4723-4735.
43. Marques M.O., F. Morotti., E. Lorenzetti., C. Bizarro-Silva., M.M. Seneda (2018). Intensified use of TAI and sexed semen on commercial farms, *Animal Reproduction*, 15, 197-203.
44. Walsh D.P., A.G. Fahey., P. Lonergan., M. Wallace (2022). Economics of timed artificial insemination with unsorted or sexed semen in a high-producing, pasture-based dairy production system, *Journal of Dairy Science*, 105, 3192-3208.
45. Nowicki A., W. Barański., A. Baryczka., T. Janowski (2017). OvSynch protocol and its modifications in the reproduction management of dairy cattle herds - an Update, *Journal of Veterinary Research*, 61, 329-336.
46. Meirelles C., L.E. Kozicki., R.R. Weiss., M.S. Segui., A. Souza., I.W. dos Santos., J.C. dos Santos Breda (2012). Comparison between deep intracornual artificial insemination (dIAI) and conventional artificial insemination (AI) using low concentration of spermatozoa in beef cattle. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 371-374.
47. Yotov S., A. Atanasov., I. Fasulkov., D. Yarkov., B. Sinapov (2022). Effect of ovarian status on reproductive performance in dairy heifers inseminated with sexed semen. *Acta Scientiae Veterinariae*, 50(1867), 1-9.



48. Йотов С., Атанасов А., Синапов Б. (2021). Репродуктивни параметри при юници осеменени със сексирана сперма (предварителен анализ), ННП „Интелигентно животновъдство“, Тракийски университет, Стара Загора, България (непубликувани данни).



Stanimir Yotov

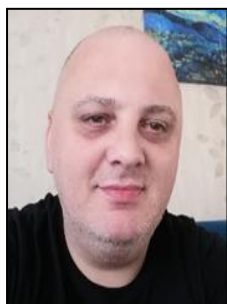
E-mail: stanrad@abv.bg



Professor PhD Stanimir Yotov, is a teacher at the Department of Obstetrics, Reproduction and Reproductive Disorders, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University. His research interests are in the field of reproduction and assisted reproductive technologies in farm animals. He has over 25 years of teaching experience, over 80 publications in refereed databases and over 20 publications in national conferences with international participation. Research and interests are currently focused on use of the assisted reproductive technologies for optimization of the reproduction in the ruminants and maintenance of sustainable animal husbandry.

Ivan Fasulkov

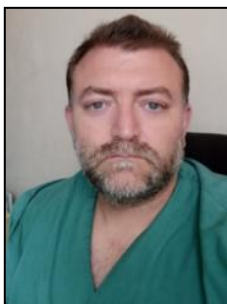
E-mail: vanko_vet@abv.bg



Associated Professor PhD Ivan Fasulkov, is a teacher at the Department of Obstetrics, Reproduction and Reproductive Disorders, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University. His research interests are in the field of physiology and pathology of reproduction and assisted reproductive technologies in farm animals. He has over 15 years of teaching experience, over 50 publications in refereed databases and over 30 publications in national conferences with international participation. Research and interests are currently focused on use of ultrasound in and assisted reproductive technologies in the animal reproduction and ultrasound diagnosis of udder diseases.

Anatoli Atanasov

E-mail: a_stefanov@mail.bg



Associated Professor PhD Anatoli Atanasov, is a teacher at the Department of Obstetrics, Reproduction and Reproductive Disorders, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University. His research interests are in the field of physiology and pathology of reproduction and assisted reproductive technologies in large ruminants. He has over 17 years of teaching experience, over 43 publications in refereed databases and over 25 publications in national conferences with international participation. Research and interests are currently focused on use of assisted reproductive technologies in large ruminants.

Boyana Ivanova

E-mail: iboyana@ymail.bg



Assistant Professor Boyana Ivanova, is a teacher at the Department of Obstetrics, Reproduction and Reproductive Disorders, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University. Her research interests are in the field of physiology and pathology of reproduction and assisted reproductive technologies in animals. She has over 5 years of teaching experience, over 6 publications in refereed databases and over 5 participations in national and international conferences. Research and interests are currently focused on assisted reproductive technologies in the animal reproduction.