

### **Список литературы**

1. Анискина, М.В., Волобуева, Е.С., Гнеуш, А.Н. Влияние физико-химических факторов на рост колоний молочнокислых микроорганизмов на подсолнечном жмыхе // Современные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции. – 2016. – С. 194-199.

2. Анискина, М.В., Волобуева, Е.С., Анискина, Е.П. Разработка питательной среды для микробного консорциума микроорганизмов на основе отходов переработки сои // Научное обеспечение агропромышленного комплекса. – 2016. – С. 126-127.

3. Волобуева, Е.С., Анискина, М. В. Эффективность использования смешанной закваски пропионовокислых и молочнокислых микроорганизмов на различных кормовых субстратах // Современные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции. – 2017. – С. 494-499.

4. Пробиотическая кормовая добавка в кормлении перепелов / А.Г. Кощаев, Ю.А. Лысенко, А.В. Лунева, А.В. Лихоман // Зоотехния. – 2015. – № 10. – С. 4–6.

[DOI: 10.34617/22y8-1593](https://doi.org/10.34617/22y8-1593)

УДК 638.145.43

## **СОХРАНЕНИЕ СПЕРМЫ ТРУТНЕЙ БЕЗ КРИОКОНСЕРВАЦИИ SAVING OF SEMEN OF DRONES WITHOUT CRYOPRESERVATION**

**Гулов Алексей Николаевич**<sup>1</sup>, соискатель,

**Ларькина Елена Олеговна**<sup>1</sup>, соискатель

<sup>1</sup>ФГБНУ “Федеральный научный центр пчеловодства”,

Россия, Рязанская обл., г. Рыбное,

**Сайфутдинова Зифа Низамовна**<sup>2</sup>- канд. биол. наук,

<sup>2</sup>ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский науч-

но-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Россия, г. Москва

<sup>1</sup>Gulov Alexey Nikolaevich, researcher,

<sup>1</sup>Larkina Elena Olegovna, researcher,

<sup>1</sup>FSBSI “Federal beekeeping research centre”,

Russian Federation, Ryazan region, Rybnoe,

Sayfutdinova Zifa Nizamovna<sup>2</sup> - leading researcher,

<sup>2</sup>FSBSI “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russia.

**Аннотация:** проведены исследования по краткосрочному хранению спермы трутней медоносной пчелы при положительных температурах. Дана сравнительная оценка способам хранения спермы, разбавленной в питательной среде и неразбавленной с использованием противомикробных средств. 73 % жизнеспособных сперматозоидов обнаружено в образце с препаратом Метрогил Дента после 60 сут хранения при 24-26 °С. Образцы со свежетобранной спермой обладали жизнеспособностью 95 % после охлаждения при 3 °С в течение 60 сут.

**Ключевые слова:** хранение спермы; искусственное осеменение; жизнеспособность сперматозоидов.

**Abstract:** studies have been conducted on the short-term storage of the sperm of honeybee drones at positive temperatures. A comparative assessment of the methods of storage of diluted sperm in nutrient medium and undiluted using antimicrobial agents is given. In the sample with Metrogyl Dent after 60 days of storage at 24-26°C were found 73 % of viable sperm. After cooling at 3 °C for 60 days, samples with native sperm had a viability of 95 %.

**Key words:** sperm storage; instrumental insemination; sperm viability.

Работы по сохранению спермы вне организма пчелиной матки выполняются в экспериментальных условиях, так как механизм консервации в семяприемнике матки до конца не изучен [2]. Анализ состояния работ [1, 2, 3, 4, 5] указывает на возможности сохранения спермы трутней при положительных температурах. Задача по разработке технологии краткосрочного хранения спермы без криоконсервации сохраняет свою актуальность. Одно из перспективных направлений - поиск питательной среды для спермы и оптимального температурного режима хранения.

Принципиально новые возможности в вопросе сохранения генетических ресурсов медоносной пчелы возникли с применением питательной среды С46 для культивирования клеток насекомых-дрозофил [3]. Но среды, содержащие сыворотки животного происхождения, могут являться источником инфекций (<https://www.sartorius.ru>). Мы провели испытание безбелковой питательной среды Lonza Insect-XPRESS™ (Sartorius Stedim, Belgium). Это универсальная среда для культивирования в шейкере стационарных культур SF9, SF21, High Fire™ и клеток дрозофилы (<https://www.sartorius.ru>).

Одновременно ведется поиск возможностей по сохранению свежееотобранной спермы без разбавления [5].

Таким образом, целью работы стало проведение сравнительной оценки способов хранения спермы трутней при положительных температурах.

**Методика.** Для хранения спермы в разбавленном состоянии использовали следующие экстендеры - среда С46 + 10 % ЭТС pH 7,2 (предоставлена ФГБНУ «ФНИЦ ВИЭВ РАН»), среда Insect-XPRESS™ pH 6,1 (Sartorius Stedim, Belgium). Свежееотобранную сперму дозами по 10 мкл смешивали с разбавителями в соотношении 1:1. Подготовленные образцы разбавленной спермы закладывали на хранение по методике [5] в стерильные стеклянные капилляры  $L=75\pm 1,0$  мм,  $d=1,8\pm 0,2$  мм. Исследования проводили в двух температурных режимах - при комнатной температуре 24-26 °С и 3 °С в бытовом холодильнике LG. Для хранения спермы в неразбавленном виде использовали стерильные пропиленовые соломинки для криохранения  $L=100\pm 1,0$  мм,  $d=2,5\pm 0,2$  мм. Учитывая малый объем спермы, закладываемой на хранение, мы использовали только ½ длины соломинки, порезав ее на части. На 50 мм соломинки использовали 17-20 мг противомикробного средства. Испытывали следующие препараты - гель стоматологический Метрогил Дента, мазь глазная 1 % Тетрациклин (антибиотик), линимент Синтомицин (антибиотик). В приготовленную таким образом соломинку, с помощью шприца от станка по искусственному осеменению пчелиных маток вводили 10 мкл свежееотобранной спермы. Опытные образцы хранили в аналогичных условиях. Контрольную группу составили

образцы свежееотобранной спермы объемом по 10 мкл без разбавления и применения противомикробных средств. Жизнеспособность сперматозоидов оценивали методом флуоресцентной микроскопии с применением флюорохромов Hoechst 33258 и PI. Исследование проводили на биологическом световом микроскопе Альтами-ЛЮМ 1 LED при увеличении 400×. Всего подсчитывали 200 сперматозоидов.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Хранение спермы при температуре 24-26 °С негативно сказывается на ее качественных показателях. Охлаждение свежееотобранной неразбавленной спермы без применения средств бактериальной контаминации в течение 60 сут при 3 °С оказывает положительное действие на ее сохранность (Рисунок 1).

Высокая температура, возможно, способствует развитию гнилостных микроорганизмов в неразбавленной сперме без использования средств бактериальной контаминации. В опытных образцах с питательной средой, вероятной причиной низких показателей жизнеспособности сперматозоидов, может служить плотность (рН) растворов.

Кислотность среды в семяприемнике матки - щелочная. Консервация спермы в данных условиях возможна в свежееотобранном виде в сочетании с противомикробными препаратами, в частности, с Метрогил Дента (жизнеспособность сперматозоидов 73 %).

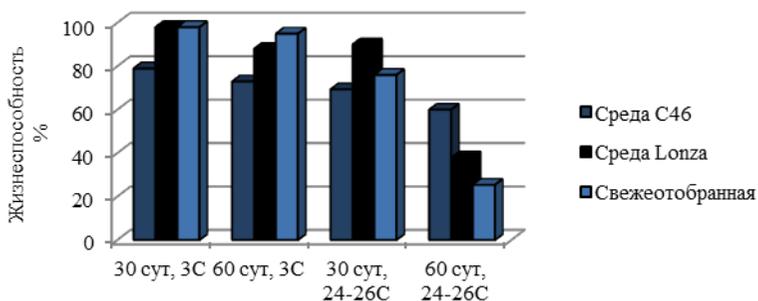


Рисунок 1. Динамика показателей качества свежееотобранной спермы и разбавленной в питательной среде в процессе хранения

**Выводы.** Определена возможность сохранения свежееотбранной неразбавленной спермы без средств бактериальной контаминации в течение 60 сут при 3 °С, а также при 24-26 °С с использованием противомикробных препаратов.

### **Список литературы**

1. Бородачев, А.В. Сохранение спермы трутней медоносной пчелы в различных разбавителях // Сборник научных трудов. Рязань: НИИ пчеловодства. – 1977. - Вып. 2. – 163 с.

2. Лазарева, Л.Н. Влияние биодобавок на хранение спермы трутней при положительных температурах // Сборник НИИР по пчеловодству. – Киров: НИИСХ Северо-востока. – 2014. – 276 с.

3. Пинаев, Г.П., Богданова М.С. Методы культивирования клеток. - СПб.: Изд-во Политехнического университета. - 2008. – 278 с.

4. Collins, A.M. Survival of honey bee (Hymenoptera: Apidae) spermatozoa stored at above freezing temperatures / Journal of Economic Entomology. – 2000a. – 93(3):568-571.

5. Hopkins, B. K., Cobey S.W., Herr C., Sheppard W.S. Gel-coated tubes extends above-freezing storage of honey bee (*Apis mellifera*) semen to 439 days with production of fertilised offspring / Reproduction, Fertility and Development. - 2017. - 29(10):1944-1949.

[DOI: 10.34617/z37p-hq96](https://doi.org/10.34617/z37p-hq96)

УДК 619:615.9:658.562:636.087

**ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА  
ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПРОИЗВЕДЕНИИ  
НИТРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ  
EFFECT OF COMPLEX FEED ADDITIVE ON THE  
ORGANISM OF LABORATORY ANIMALS WITH  
EXPERIMENTAL REPRODUCTION OF NITRATE  
INTOXICATION**

Долгов Евгений Петрович, аспирант,