

продовольственной безопасности РФ : материалы II научно-практической конференции с международным участием, Ярославль, 10–11 июля 2025 года. – Ярославль: ООО "Кандлер", 2025. – С. 119-125. – EDN SSPQMC.

6. Костомахин, Н. М. Совершенствование скота черно-пестрой породы различного происхождения : Монография / Н. М. Костомахин, О. А. Воронкова, М. А. Габедава. – Калуга : Индивидуальный предприниматель Стрельцов Илья Анатольевич, 2023. – 122 с. – ISBN 978-5-907678-10-1. – EDN GFQETZ.

7. Ливчиков, А. С. Влияние способа содержания на воспроизводительные качества коров с разной линейной принадлежностью / А. С. Ливчиков // Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК России : Сборник материалов Международной научно-практической конференции молодых ученых, Пенза, 31 октября – 01 2024 года. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2024. – С. 121-125. – EDN BVSKFL.

8. Шишкина, Т. В. Биологические и продуктивные качества коров различного генезиса в лесостепной зоне Среднего Поволжья / Т. В. Шишкина. – Пенза : Пензенский государственный аграрный университет, 2026. – 177 с. – ISBN 978-5-00196-419-3. – EDN SZQZOM.

УДК 638.145.43

А.Н. Гулов, канд. с.- х. наук

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Федеральный научный центр пчеловодства»

г. Рыбное, Россия

e-mail blee3@yandex/ru

ВЛИЯНИЕ СКОРОСТИ ЗАМОРАЖИВАНИЯ НА КАЧЕСТВО СПЕРМЫ ТРУТНЕЙ

Ключевые слова: программируемое замораживание, сперма трутней, криовиалы, криосоломины

Keywords: programmable freezing, drone spermatozoa, cryovials, straw

Аннотация. Цель работы – сравнительная оценка криосоломин и криовиал при программируемом замораживании спермы трутней. В криосоломине воздействие жидкого азота на образец сильнее в силу увеличения площади поверхности образца. В ходе сравнительного анализа исследуемых форм криохранения выявлено достоверное превосходство криовиал перед криосоломинами при программируемом замораживании со скоростью 1–3°/мин по общей подвижности ($U = 3166,5 - 3637$, при $p < 0,05$) и жизнеспособности сперматозоидов ($U = 2786,5$, при $p < 0,05$). Общая подвижность сперматозоидов, замороженных в криовиалах и криосоломинах со скоростью 1°/мин, оказалось достоверно выше в сравнении с образцами, замороженными со скоростью 3°/мин ($t = 2,3$ и $t = 2,9$, при $p < 0,05$).

Summary. The purpose of this study is to comparatively assess both straws and cryovials in the programmable freezing of drone semen. The impact of liquid nitrogen on a sample in a straw is larger, as the surface area of the sample is increased. During the comparative analysis of the cryopreservation forms studied it has been revealed that cryovials are credibly superior to straws in programmable freezing at a rate of $1-3^{\circ}/\text{min}$, as shown by the overall motility ($U = 3166.5 - 3637$, $p < 0.05$) and viability ($U = 2786.5$, $p < 0.05$) of spermatozoa. The overall motility of spermatozoa frozen in cryovials and straws at a rate of $1^{\circ}/\text{min}$ was shown to be credibly higher in comparison with samples frozen at a rate of $3^{\circ}/\text{min}$ ($t = 2.3$ and $t = 2.9$, $p < 0.05$).

Введение. Криоконсервация спермы различных животных довольно широко применяется в практике их разведения, воспроизводства и сохранения. Главная цель низкотемпературного хранения спермы трутней - сделать возможным использование ее для искусственного осеменения пчелиных маток с сохранением воспроизводительной способности на уровне осемененных свежестообранной спермой или полученных в условиях естественного спаривания [2]. Результатом многолетних исследований в области криобиологии медоносной пчелы, стало создание криобанков спермы трутней в России [2], США [3], Германии [4]. В методических рекомендациях FAO по криоконсервации генетических ресурсов животных [1] опубликованы протоколы замораживания и оттаивания спермы трутней медоносной пчелы [3,5] с использованием программируемого замораживателя. Наиболее распространенными методами криоконсервации спермы трутней, обеспечивающими сохранение оплодотворяющей способности сперматозоидов на достаточно высоком уровне, являются замораживание в парах жидкого азота [2, 6-8] и с помощью программируемого замораживателя [3,5,9]. Наиболее практикуемой формой криохранения спермы медоносной пчелы являются криосоломины 0,25 мл (250 мкл). В силу того, что объем разбавленной спермы для замораживания составляет, как правило, 5 – 10 мкл, то криосоломины подрезают до 6,5 см в длину [3] или до 4 см [9]. Отличительной особенностью криосоломины является большая площадь наружной поверхности контейнера, отнесенная к единице объема препарата. Соответственно, в криосоломине воздействие жидкого азота на образец будет сильнее, так как в ней увеличивается площадь поверхности образца.

Таким образом, **целью** настоящего исследования является – сравнительная оценка криосоломин и криовиал при программируемом замораживании спермы трутней.

Материалы и методы. Сбор свежей спермы проводился в ФГБНУ «Федеральный научный центр пчеловодства (г. Рыбное, Рязанская область,

Россия) от трутней породного типа «Приокский» среднерусской породы пчел (*A. mellifera* L.). Образцы спермы были исследованы в лаборатории селекции и молекулярно-генетических исследований медоносных пчел ФНИЦ пчеловодства в 2023 г. Всего было заготовлено 200 мкл свежееотобранной спермы – 100 мкл для замораживания в криосоломинах и 100 мкл для криоконсервации в криовиалах. Качество спермы оценивали по методике [10]. Подготовку образцов для криоконсервации осуществляли по методике [10]. Замораживание образцов осуществляли на программируемом замораживателе BioFreeze BV-65 (Consarctic, Germany). Сравнительную оценку криовиал и криосоломин проводили по двум протоколам замораживания спермы трутней: со скоростью 3°/мин и 1°/мин. Оттаивание образцов проводили через сутки после криохранения по методике [10].

Статистический анализ. Статистические различия между выборками были проверены с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием раздельного построения графиков (STATISTICA версии 13.0; StatSof Россия, Москва). Групповые различия сравнивались с использованием t-критерия Стьюдента. Сравнительную оценку криовиал с криосоломинами проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Эффекты считались значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований. В период окончания активного сезона пчеловодства (август) в условиях Рязанской области прошлого года трутни отличались достаточно высокой половой потенцией, а сперма имела насыщенный кремовый цвет. При этом, была отмечена достаточно высокая вязкость эякулята и снижение активности сперматозоидов. Так, средний показатель общей подвижности составил $62,4 \pm 2,35\%$, жизнеспособности $93,1 \pm 1,11\%$ и концентрации сперматозоидов $3,3 \pm 0,13$ млн/мкл. По качественным характеристикам такая сперма подходила для экспериментальных исследований. Через сутки после криоконсервации со скоростью 3°/мин подвижность сперматозоидов замороженных в криовиалах сократилась в 4,7 раза, а в криосоломинах в 15 раз (таблица 1).

Тогда как мембраны спермиев замороженных в криовиалах незначительно подверглись воздействию агрессивных условий жидкого азота (снижение на 0,6%). Средний показатель жизнеспособности заморожено-оттаянной спермы из криосоломин снизился на 16,4%. В ходе сравнительного анализа исследуемых форм криохранения для спермы трутней с помощью критерия Манна-Уитни выявлено достоверное превосходство криовиал перед криосоломинами при программируемом замораживании со скоростью 3°/мин.

Таблица 1. Качество спермы трутней *A. mellifera* L, после замораживания со скоростью 3°/мин

Статистические показатели	Качество заморожено-оттаянной спермы			
	в криовиалах, n = 100		в криосоломинах, n = 101	
	общая подвижность, %	жизнеспособность, %	общая подвижность, %	жизнеспособность, %
M ± m	13,1 ± 1,9 (0 – 100)	92,5 ± 1,5 (50 – 100)	4,1 ± 1,3 (0 – 100)	76,7 ± 1,9 (33,4 – 100)
σ	19,9	14,8	12,9	19,8
Cv, %	151,8	16,0	315,5	25,8
U-критерий	3637,0	2786,5	-	-
Z	3,42	5,49	-	-
p	0,000613	0,000000	-	-

Через сутки после криоконсервации со скоростью 1°/мин подвижность сперматозоидов замороженных в криовиалах сократилась в 3,3 раза, а в криосоломинах в 6,4 раза (таблица 2).

Таблица 2. Качество спермы трутней *A. mellifera* L, после замораживания со скоростью 1°/мин

Статистические показатели	Качество заморожено-оттаянной спермы			
	в криовиалах, n = 100		в криосоломинах, n = 101	
	общая подвижность, %	жизнеспособность, %	общая подвижность, %	жизнеспособность, %
M ± m	18,8 ± 1,5 (0 – 66,7)	93,0 ± 1,2 (33,4 – 100)	9,7 ± 1,4 (0 – 66,7)	89,7 ± 1,6 (25 – 100)
σ	15,3	11,9	13,8	16,7
Cv, %	81,4	12,7	141,9	18,6
U-критерий	3166,5	4499,5	-	-
Z	4,48	1,22	-	-
p	0,000008	0,221824	-	-

Показатель целостности мембран спермиев замороженных в криовиалах снизился на 0,1%, а в криосоломинах на 3,4%.

Заключение. По результатам сравнительного анализа исследуемых форм криохранения установлено достоверное превосходство криовиал перед криосоломинами только по показателю общей подвижности при программируемом замораживании со скоростью 1°/мин. Выбранные нами режимы замораживания оказали влияние на качественные характеристики сперматозоидов во время криоконсервации в исследуемых формах хранения. Так, замораживание спермы в криовиалах со скоростью 1°/мин оказалось достоверно эффективней в сравнении со скоростью 3°/мин по показателю общей подвижности сперматозоидов ($t = 2,3$ при $p < 0,05$). Исследу-

емые режимы замораживания не оказали достоверного влияния на жизнеспособность спермиев ($t = 0,6$ при $p > 0,05$). Криоконсервация спермы в криосоломинах со скоростью $1^\circ/\text{мин}$ оказалась достоверно эффективней в сравнении со скоростью $3^\circ/\text{мин}$ по показателю общей подвижности сперматозоидов ($t = 2,9$ при $p < 0,05$) и жизнеспособности ($t = 5,0$ при $p < 0,05$).

Таким образом, замораживание спермы трутней в криовиалах имеет явное преимущество перед криосоломинами по показателю общей подвижности в особенности при более медленном программируемом замораживании со скоростью $1^\circ/\text{мин}$. Подвижность спермиев в нашем опыте оказалась наиболее уязвимой при воздействии предельно низких температур.

Список использованной литературы

1. Boes, J., Boettcher, P., Honkatukia, M. Innovations in cryoconservation of animal genetic resources / J. Boes, P. Boettcher P., M. Honkatukia // – Practical guide. FAO Animal Production and Health Guidelines. – 2023. - No. 33. Rome. Режим доступа: <https://doi.org/10.4060/cc3078en>.
2. Криобанк спермы трутней медоносной пчелы / В.Т. Какпаков, О.В. Кабашова, А.В. Бородачев, Е.С. Какпакова // Пчеловодство. – 1993. - №8. – С. 4-6.
3. Hopkins, B. K., Herr, C., Sheppard, W.S. Sequential generations of honey bee (*Apis mellifera*) queens produced using cryopreserved semen / B. K. Hopkins, C. Herr, W.S. Sheppard // Reproduction, Fertility and Development. – 2012. - V. 24. – P. 1079-1083. Режим доступа: <https://www.researchgate.net/>.
4. Zwei Bienen institute legen in Deutschland eineneue Kryobank fur Honig bienenan / J. Wegener, V. Viert, M. MeixnerM, K. Bienefeld // Deutsches Bienen Journal. - 2019. - V.8. – P.62.
5. A non-activating diluents to prolong in vitro viability of *Apis mellifera* spermatozoa: Effects on cryopreservation and on egg fertilization / A. Rajamohan, R. G. Danka, B.K. Hopkins, J.P. Rinehart // Cryobiology. – 2020. - V.92. - P.124–129. Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2019.11.045>
6. Effect of egg yolk on sperm cryopreservation of drone (*Apis mellifera*) / L. Henry, D.R. Álvaro, C.M. Karen [et al] // AbanicoVeterinario. – 2019. - V.9 (1). – P. 1-11. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2019.921>
7. Auth, C. A., Hopkins, B. K. Nitrogen vapor immersion: An accessible alternative for honey bee (*Apis mellifera* L.) semen cryopreservation / C.A. Auth, B.K. Hopkins // Cryobiology Journal. - 2021. – V.100. – P. 12–18. Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2021.04.006>
8. Castillo, A., Emesto, J.L. Efecto de dos crioprotector sobre la viabilidad de espermática de zánganos de abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) / A. Castillo, J.L. Emesto // Universidad Nacional Agraria la Molina, Peru. – 2020. Режим доступа: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4353>
9. In vivo validation of in vitro quality tests for cryopreserved honey bee semen / J. Wegener, T. May, U. Knollman [et al] // Cryobiology Journal. – 2012. – V.65. – P. 126–131. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2012.04.010>.
10. Влияние синтетических сред, яичного желтка и пчелиного меда на криоустойчивость спермы трутней / А.Н. Гулов, З.Н. Сайфутдинова, Д.В. Митрофанов, И.А. Языков // Генетика и разведение животных. – 2020. – №1. – С. 27–36. Режим доступа: DOI: 10.31043/2410-2733-2020-1-27-36