

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора Саттарова Венера Нуруллоевича на диссертационную работу Гулова Алексея Николаевича на тему «Разработка методов консервации спермы трутней для сохранения генофонда *Apis mellifera* L.», представленную в диссертационный совет Д 006.018.01 на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства» на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.02.10 – Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства

**Актуальность темы.** Известно, что подвиды и популяции медоносной пчелы в современных природных и антропогенных экосистемах являются важными составляющими элементами. На их долю приходится 80 - 90% опыляемых энтомофильных растений. К большому сожалению, подвиды пчел, сформированные в процессе эволюции, в результате антропогенного влияния претерпевают относительно резкие видообразовательные изменения и ареалы чистопородного разведения сокращаются. Вследствие этого качественный и количественный состав генофонда популяций медоносной пчелы, является одной из основных причин современного кризиса в пчеловодстве. Сохранение генетических ресурсов медоносных пчел России, является актуальной проблемой в связи с бесконтрольной интродукцией различных пород и нарастающим экологическим кризисом. В этой связи, конечно же, появляется необходимость применения биотехнологических методов сохранения генофонда пчел, куда относятся: искусственное осеменение пчелиных маток и консервация спермы трутней. В этой связи, изыскания, проведенные в рамках поиска, апробации и разработки методов консервации спермы трутней, для сохранения генетических и биологических ресурсов медоносной пчелы на территории России, являются актуальными и характеризуются теоретической и научно-практической значимостью.

**Целью представленной работы** явилась разработка методов консервации спермы трутней для сохранения генетических ресурсов *Apis mellifera* L. на территории Российской Федерации.

В соответствие с этой целью соискателем были **сформулированы и поставлены пять задач**, которые в процессе изысканий были удачно решены.

**Научная новизна.** Гуловым А.Н. впервые разработан способ криоконсервации спермы трутней на основе 10% медового разбавителя с акации белой и разработан способ консервации спермы трутней в охлажденном состоянии при плюсовых температурах. Важно, что с точки зрения развития методологии биотехнологии в области сохранения генофонда, соискателем впервые проведена сравнительная оценка качества спермы трутней 5, 7 и 25 летней консервации в жидком азоте на основе полусинтетической среды С46 с использованием современной методики определения жизнеспособности сперматозоидов. Также соискателем впервые проведен анализ морфологических параметров сперматозоидов после длительного периода криохранения.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Криоконсервация спермы трутней позволяет реализовать первую ступень мероприятий по селекционной работе с медоносными пчелами, т.к. во время криоконсервации происходит первичный отбор биоматериала. Научно обоснованное устранение последствий бесконтрольной интродукции различных пород медоносных пчел на территорию России должно основываться, прежде всего, на методологии искусственного осеменения пчелиных маток и консервации спермы трутней. Полученные соискателем результаты исследований позволят модернизировать существующую технологию криоконсервации спермы трутней пчел, разработанную НИИ пчеловодства. Дальнейшая апробация натурального пчелиного меда в качестве разбавителя позволит значительно упростить и удешевить процедуру криоконсервации спермы трутней, сделать ее доступной для племенных репродукторов и заводов России. Также надо отметить, что результаты исследований по хранению спермы в охлажденном состоянии применимы в настоящее время в виде реализации спермадоз от



чистопородных трутней основных пород пчел, разводимых на территории РФ с гарантией сохранения оплодотворяющей способности в течение 2 - 3 мес. в температурном диапазоне от 2 до 8 °С.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений** обусловлены методически правильно подобранными экспериментальными группами, классическими и современными методами анализа экспериментальных данных. Полученные цифровые данные подвергнуты статистической обработке методами вариационной статистики. Научные положения, заключение, выводы, практические предложения убедительны и обоснованы, вытекают из полученных результатов и подтверждаются апробацией и публикацией основных положений работы.

Материалы диссертации изложены в 20 научных публикациях, в том числе 11 статей опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

**Оценка содержания диссертации.** Работа изложена на 158 страницах машинописного текста, включает 28 таблиц и 30 рисунков, связанные с текстовым материалом и дополняющие их. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, заключения, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 216 источников, в том числе 132 иностранном языке.

**Во «Введении»** обоснована актуальность темы исследования, дана информация о современном состоянии проблемы, поставлена цель, определены задачи исследований, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы диссертационного исследования, основные положения, выносимые на защиту, апробация результатов исследования.

В главе **«Обзор литературы»** соискателем представлен анализ монографической и периодической научной литературы по результатам исследований в рамках оценки биологических показателей спермы трутней

после длительного хранения в жидком азоте и охлажденном состоянии. Раскрыты проблемы и пути решения вопросов в области мониторинга качественных показателей пчелиных маток, при применении искусственно осемененных заморожено-оттаянной и охлажденной спермы. Подробно рассмотрены данные научно-практических и теоретических достижений ученых и специалистов в области изучения функциональных показателей половозрелых трутней и оптимальных условий их воспроизводства.

В главе «**Материалы и методы исследований**» приведены общая схема исследований, условия выполнения работы, технологические регламенты, база проведения работ, методы и методики проведения исследований, способы и программы обработки экспериментальных данных.

**Результаты собственных исследований и их обсуждение** представлены в подглавах 4.1. – 4.6, в которых изложены полученные материалы в соответствии с поставленными целью и задачами. В подглаве 4.1 представлены результаты исследований по оценке влияния сред, яичного желтка и пчелиного меда на криоустойчивость спермы трутней. По результатам изысканий соискатель резюмирует, что более эффективно искусственно осеменять пчелиных маток заморожено-оттаянной спермой из образцов с ДМСО (диметилсульфоксид). При этом, важно, что выявлены незначительные аномалии в морфологии сперматозоидов при криоконсервация спермы в меде.

В подглаве 4.2., проанализированы данные полученные при исследовании жизнеспособности сперматозоидов, замороженных в среде С46 во временном отрезке, а именно задачи были решены в два этапа после 6 и 24 лет криохранения. Соискатель установил, что во время длительного хранения в жидком азоте, сперма трутней, замороженная в среде С46, сохраняет свою жизнеспособность на достаточно высоком уровне 71-93%. При этом наблюдалось снижение оплодотворяющей способности.

В подглаве 4.3 Гулов А.Н. представил анализ данных по влиянию криоконсервации на морфометрические параметры сперматозоидов трутней



медоносной пчелы В рамках данных исследований соискатель установил, что размеры головки сперматозоидов (длина акросомы, длина ядра, площадь ядра и периметр ядра) заморожено-оттаянных образцов были значительно ниже, чем у свежееотобранных. При этом, автор отмечает, что уменьшение морфометрических параметров головки сперматозоидов после криоконсервации связано с прогрессирующей дегидратацией сперматозоида при охлаждении и замораживании; большого содержания спермиев с поврежденной акросомой; гиперконденсацией хроматина сперматозоида.

Решение вопросов по сохранению спермы трутней в охлажденном состоянии автор представил в **подглаве 4.4**. В ходе исследований он установил оптимальный режим хранения неразбавленной спермы в охлажденном состоянии при 3<sup>0</sup>С. С технологической точки зрения соискатель отмечает, что концы капилляров должны быть закрыты с обеих сторон стерильной медицинской ватой и заварены пчелиным воском. Во избежание пересыхания спермы, в капилляре также должен содержаться физиологический раствор 0,9% по обе стороны от спермы, отделенный от нее воздушными пробками с обеих сторон.

Исследования качественных показателей половозрелости трутней (**подглава 4.5**) позволили установить, что наилучшими показателями качества отличалась сперма у трутней в возрасте 30 сут., как по концентрации сперматозоидов, так и по активности ферментов спермы дегидрогеназ. Между концентрацией сперматозоидов и активностью дегидрогеназ была установлена обратная тесная связь.

В завершении своих изысканий автор провел работы по выявлению влияния одновременного выращивания трутней и неплодных пчелиных маток на их массу в пчелиных семьях-воспитательницах (**подглава 4.6**). Автор установил, что одновременное выращивание трутневый особей и неплодных маток не оказывает существенного влияния на их массу, по сравнению с отдельным выращиванием.

**В целом диссертант выполнил значительный объем исследований, в результате которых получены новые данные для науки и практики.**

**Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.** Автореферат соответствует тексту диссертации и оформлен в соответствии с требованиями ВАК Российской Федерации и ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления», утвержденного приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии №811-ст от 13.12.2011 г.

**Подчеркивая актуальность, новизну, теоретическую и научно-практическую значимость исследований, считаю необходимым высказать ряд вопросов и замечаний:**

1. На стр. 4, в разделе «Введение», перечислены названия пород медоносных пчел, на русском и латинском языках, которые разводятся на территории России. Латинское название башкирской породы пропущено. Хотел бы узнать, как будет звучать данная таксономическая группа пчел на латинском языке. Чем отличаются перечисленные породы друг от друга ?

2. В разделе «Степень разработанности темы» отмечено, что в настоящее время имеется сравнительно мало исследований, касающихся влияния оттаивания спермы на биологические показатели сперматозоидов. На Ваш взгляд, в эпоху интенсификации пчеловодческой отрасли, чем это объясняется ?

3. На стр. 54 написано, что пчелиные семьи подвергали плановой обработке от варроатозного клеща. Какими препаратами обрабатывались пчелиные семьи ? На Ваш взгляд, данные препараты могут ли воздействовать на качество спермы трутней ?

4. В работе отмечается, что в качестве разбавителя применялся мед из акации белой. Объясните почему был выбран конкретно этот вид меда ?

5. На мой взгляд, перед применением меда в экспериментах необходимо было провести их анализ на содержание экотоксикантов. Хотелось бы услышать Ваше мнение по поводу того, что содержащиеся в



меде экотоксиканты могут или не могут воздействовать на сперму трутней, при использовании их в качестве разбавителя.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа А.Н. Гулова на тему «Разработка методов консервации спермы трутней для сохранения генофонда *Apis mellifera*», представленная на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук, является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой и соответствует паспорту специальности 06.02.10 – Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства. Диссертация по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов, по объему и уровню проведенных исследований соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ, предъявляемым к диссертациям п.9 «Положение о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, на соискание ученой степени, а ее автор заслуживает присуждения кандидата сельскохозяйственных наук.

#### Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор,  
декан естественно-географического  
факультета  
государственного  
образовательного учреждения высшего  
образования  
государственный  
университет им. М. Акмуллы

Федерального  
бюджетного  
«Башкирский  
педагогический



01.02.2022г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы (ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»)

Почтовый адрес: 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Октябрьской революции, 3а.

Телефон: 8(347) 287-99-91, 246-46-75, e-mail: [wener5791@yandex.ru](mailto:wener5791@yandex.ru)