

**SURVIVAL AND ACTIVITY OF RUSSIAN STURGEON SPERMATOZOA USING
VARIOUS CRYOENVIRONMENTS****D. A. Randelin, T. M. Davudova, A. I. Novokschanova, Yu. V. Kravchenko,
V. N. Agapova***Volgograd State Agrarian University
Volgograd, Russian Federation*Corresponding author E-mail: davudovaturkan@mail.ru

Received 07.06.2023

Submitted 10.08.2023

Summary

The article studied the survival and activity of Russian sturgeon spermatozoa using various cryogenic media, assessing the effectiveness of using cryopreserved sperm in the artificial reproduction of Russian sturgeon.

Abstract

Introduction At present, the survival and activity of Russian sturgeon spermatozoa are being studied using various cryogenic media. Possibility of increasing the low cryoresistance of sturgeon sperm due to the use of antioxidants in the composition of basic cryoprotective media. However, today, inbreeding of individuals is often carried out at fish hatcheries, which threatens with the loss of the natural genetic diversity of populations, inbreeding and, accordingly, a decrease in the adaptive potential of animals. While the preservation of cryopreserved sperm during artificial reproduction, at fish farms, will allow obtaining genetically heterogeneous offspring, reduce the area and cost of maintaining males, thereby allowing an increase in the production herd of females. Biotechnical development of cryopreservation of spermatozoa in Russian sturgeon for the purpose of their long-term storage at low and ultralow temperatures is an important area of research in the field of aquaculture and involves the creation of cryobanks of sturgeon genomes. It is known that aqueous plasma crystals and the cell itself often cause spermatolysis when frozen. Therefore, the search for substances with cryoprotective properties continues to this day. In this work, we studied various cryomedia in various proportions using sturgeon seminal fluid. The results obtained were compared with the base medium. In addition, the freezing and storage of seminal fluid was carried out in two versions: at low and ultra-low temperatures. The cold resistance of spermatozoa was assessed by spermatozoa motility and morphological analysis of cells by light microscopy. It is shown that this is due to the composition of cryoprotectants. The most severe violations were observed when adding osmotically active substances, including some inorganic compounds. **Object.** The object of the study is the spermatozoa of the Russian sturgeon. **Materials and methods.** Reproductive cells of Russian sturgeon males obtained in the scientific center "Breeding of valuable sturgeon breeds" were used for the study. The studies were carried out at the Scientific Center "Breeding of valuable sturgeon breeds" of the Volgograd State Agrarian University. For the study, Russian sturgeon sperm, obtained at the research center, was used. The studies were carried out in 2020-2022. sperm was obtained by the method of Tsvetkova et al. Collection, placement and storage of samples in a Dewar vessel equipped with canisters for placing biomaterial, which are suspended in a vessel on fiberglass handles to reduce heat gain and obtain maximum storage time at liquid nitrogen temperature, freezing was carried out in accordance with the "Regulations on the collection genetic low-temperature fish sperm bank" (1996) and "Procedure for collecting and laying in a low-temperature bank of genetic collections of fish sperm" (1996), approved by the Interdepartmental Ichthyological Commission. Also used polyethylene containers for freezing and storage with a volume of 1.5 and 0.6 ml. binocular microscope Micromed, Goryaev's camera, which was necessary to count the number of cells in a given volume of liquid. In studies on cryopreservation, semen with an activity of 4 and 5 points was used. Cryopreservation of reproductive cells was carried out according to a previously developed method using the most optimal cryoenvironment. The essence of the freezing technique is as follows. Freezing of a biological object in nitrogen vapor occurs from the initial tempera-

ture to the eutectic one. When the temperature reaches the cryoscopic value, the stage of ice crystal formation begins. When the crystal formation process ends, and the temperature throughout the volume of the test tube with the biological object reaches the eutectic temperature, the test tube with the biological object is immersed in liquid nitrogen, continuing its freezing to a final temperature of -196°C . After that, the test tube with the biological object is left in liquid nitrogen for long-term storage. Russian sturgeon sperm samples were kept in liquid nitrogen for 12 hours. **Results and conclusions.** When freezing the seminal fluid of Russian sturgeon in cryo-medium № 1, the life time of spermatozoa during dilution averaged 228.1 seconds, with defrosting 134.6 seconds, while the activity of diluted sperm was 57.8%, and defrosted 43.8%. During cryopreservation in medium № 2, in comparison with cryo-medium № 1, the activity and lifetime of diluted sperm increased by 6.32% and 5.11%, defrosted sperm by 4.95% and 4.43%, respectively. The use of cryo-medium № 3 in comparison with cryo-medium № 1 did not have a significant effect on the increase in the activity of spermatozoa in dilute and defrosted seminal fluid (3.38 and 2.22%, respectively), however, an increase in the lifetime of spermatozoa by 8.84% was recorded. (diluted) and 8.21% (defrosted). When using medium № 4 containing soy lecithin, it was recorded that, in comparison with cryo-medium № 1, the activity of diluted sperm increased by 13.55, and defrosted by 10.6%, while the lifetime of spermatozoa increased by 2.79 and 2.05%. Thus, the implementation of research results will increase the demand for cryotechnologies for large volumes of sperm required for the formation of industrial cryobanks.

Key words: *Russian sturgeon, cryo-environment, reproductive cells of male fish.*

Citation. Randelin D. A., Davudova T. M., Novokshyonova A. I., Kravchenko Yu. V., Agapova V. N. Survival and activity of Russian sturgeon spermatozoa using various cryoenvironments. *Proc. of the Lower Volga Agro-University Comp.* 2023. 298-306 (in Russian). DOI: 10.32786/2071-9485-2023-03-30.

Author's contribution. All authors of this research paper have directly participated in the planning, execution, or analysis of this study. All authors of this paper have read and approved the final version submitted.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

УДК 639.371.2

ВЫЖИВАЕМОСТЬ И АКТИВНОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ РУССКОГО ОСЕТРА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ КРИОСРЕД

Д. А. Ранделин, доктор биологических наук, профессор

Т. М. Давудова, преподаватель

А. И. Новокщёнова, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Ю. В. Кравченко, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

В. Н. Агапова, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ
г. Волгоград, Российская Федерация

Актуальность. В настоящее время изучается выживаемость и активность сперматозоидов русского осетра при использовании различных криосред, возможность повышения низкой криорезистентности спермы осетровых рыб за счет использования антиоксидантов в составе базовых криопротекторных сред. Однако часто сегодня на рыбоводных заводах проводится близкородственное скрещивание особей, что грозит потерей природного генетического разнообразия популяций, инбридингом и, соответственно, снижением адаптивного потенциала животных. Тогда как сохранение криоконсервированной спермы при искусственном воспроизводстве, на рыбоводных предприятиях, позволит получать генетически разнородное потомство, сократит площади и затраты на содержание самцов, тем самым позволив увеличить продуктивное стадо самок. Биотехническая разработка криоконсервации сперматозоидов русского осетра с целью их длительного хранения при низких и сверхнизких температурах является актуальным направлением исследования в области аквакультуры и предполагает создание криобанков геномов осетра. Известно, что водные кристаллы плазмы и сама клетка часто вызывают

сперматолиз при замораживании. Поэтому поиск веществ с криопротекторными свойствами продолжается до сих пор. В данной работе мы исследовали различные криосреды в различных соотношениях с использованием семенной жидкости осетра. **Объект.** Объектом исследования являются сперматозоиды русского осетра. **Материалы и методы.** Исследования проводили в НЦ «Разведение ценных пород осетровых» Волгоградского ГАУ в 2020-2022 гг. Для проведения исследования использовали сперму русского осетра, полученную в научном центре методом Цветковой с соавторами. Сбор, закладка и хранение образцов в сосуде Дьюара, укомплектованном канистрами для размещения биоматериала, которые подвешиваются в сосуде на стеклопластиковых ручках для уменьшения теплопритока и получения максимального времени хранения при температуре жидкого азота, замораживание проводили в соответствии с «Положением о коллекционном генетическом низкотемпературном банке спермы рыб» и «Порядком сбора и закладки в низкотемпературный банк генетических коллекций спермы рыб», утвержденными Межведомственной ихтиологической комиссией. Также использовали полиэтиленовые контейнеры для замораживания и хранения объемом 1,5 и 0,6 мл, бинокулярный микроскоп Микромед, камеру Горяева, которые были необходимы для подсчета количества клеток в заданном объеме жидкости. В исследованиях по криоконсервации использовали сперму активностью 4 и 5 баллов. Криоконсервацию репродуктивных клеток проводили по разработанной ранее методике с использованием наиболее оптимальной криосреды. **Результаты и выводы.** При замораживании семенной жидкости русского осетра в криосреде №1, время жизни спермиев при разбавлении в среднем составило 228,1 секунды, при дефростации 134,6 секунды, при этом активность разбавленной спермы составила 57,8%, а дефростированной 43,8%. При криоконсервации в среде №2, в сравнении с криосредой №1 увеличилась активность и время жизни разбавленной спермы на 6,32% и 5,11%, дефростированной спермы на 4,95% и 4,43% соответственно. Использование криосреды №3 в сравнении с криосредой №1 не оказало значительного влияния на увеличение активности сперматозоидов в разбавленной и дефростированной семенной жидкости (3,38 и 2,22% соответственно), однако при этом было зафиксировано увеличение времени жизни сперматозоидов на 8,84% (разбавленная) и 8,21% (дефростированная). При использовании среды № 4, содержащей соевый лецитин, было зафиксировано, что в сравнении с криосредой № 1, активность разбавленной спермы увеличилась на 13,55%, а дефростированной – на 10,6 %. При этом время жизни сперматозоидов увеличилось на 2,79 и 2,05%. Таким образом, внедрение результатов исследований позволит увеличить востребованность криотехнологий для больших объемов спермы, необходимых для формирования производственных криобанков.

Ключевые слова: русский осетр, криосреды, репродуктивные клетки самцов рыб.

Цитирование Ранделин Д. А., Давудова Т. М., Новокщёнова А. И., Кравченко Ю. В., Агапова В. Н. Выживаемость и активность сперматозоидов русского осетра при использовании различных криосред. *Известия НВ АУК.* 2023. 3(71). 298-306. DOI: 10.32786/2071-9485-2023-03-30.

Авторский вклад. Все авторы настоящего исследования принимали непосредственное участие в планировании, выполнении или анализе данного исследования. Авторы настоящей статьи одобрили представленный окончательный вариант.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Введение. В наше время остро стоит вопрос сохранения биологического разнообразия. Критическая ситуация сложилась с русским осетром, который является наиболее ценным объектом промысла в бассейнах южных морей России. Повышенный интерес к криоконсервированию связан с нарастающим антропогенным влиянием на водные экосистемы, от которого особенно пострадали русские осетра – наиболее крупная группа позвоночных животных. Такое воздействие резко ускорило темп преобразования водоёмов, что сказалось на сокращении числа видов, упрощении их популяционной структуры и в целом на биоразнообразии. Наблюдают и неуклонное сокращение численности рыб даже в крупных экосистемах. Особенно это заметно на таких видах, как

осетровые [1, 3, 4]. Если ранее русский осётр имел промысловое значение, то в настоящее время его вылов запрещен. А популяция русского осётра резко уменьшилась. Такое состояние с популяциями аборигенных, уникальных, исчезающих и хозяйственно ценных видов рыб в южных морях России приводит к острой необходимости, наряду с восстановлением численности этих видов в естественных водоёмах, приступить к полномасштабному выращиванию их в искусственных условиях и развивать аквакультуру как агропромышленный сектор с применением низкочастотных и эффективных технологий, которые обеспечивают снижение промыслового давления на естественные популяции. Среди мероприятий по сохранению этого богатства, важное место принадлежит методам консервирования сперматозоидов с использованием различных криосред [1, 5-7]. Решение такой проблемы возможно путем длительного сохранения генетической информации. В сложившейся ситуации безальтернативным является метод криоконсервации репродуктивных клеток [2, 10]. На сегодняшний день главным источником поддержания запасов русского осётра является его искусственное воспроизводство. Однако в его основу положены принципы содержания и использования производителей из маточных стад, содержащихся на предприятии, что, в свою очередь, ограничивает число особей, скрещивающихся между собой, и приводит впоследствии к инбридингу, что грозит потерей природного генетического разнообразия популяций, и соответственно, снижением адаптивного потенциала животных [3, 9]. Кроме того, в формировании маточных стад на рыбоводных заводах, особенно осетровых, отсутствуют какие-либо принципы и, зачастую, оно носит стихийный характер, что связано с нехваткой производителей. Все это отражается на качестве (физиологическая, генетическая полноценность) молоди, выпускаемой с рыбоводных заводов [2, 4, 5]. Отмечено, что выпуск «заводской» молоди осетровых в водоёмы увеличивает долю гетерозигот в популяции, а это приводит к сокращению численности и постепенной деградации потомства [8, 9, 11, 12]. Тогда как сохранение криоконсервированной спермы при искусственном воспроизводстве, на рыбоводных предприятиях, позволит получать генетически разнообразное потомство, сократит площади и затраты на содержание самцов, тем самым позволив увеличить продуктивное стадо самок [8].

Совершенствование методов подготовки клеток и тканей к низкотемпературному консервированию идет путем применения комбинированных методик, доработки существующих подходов и технологий, а также через поиск нестандартных приемов перевода клеток в состояние анабиоза [2].

Целью наших исследований является сохранять и использовать репродуктивные клетки самцов русского осётра, дающих высококачественное потомство в течение длительного времени, превышающего продолжительность жизни самих производителей, также создать банк генов самца русского осётра, представляющих ценный материал для сохранения вида, что позволит транспортировать сперму таких производителей в отдаленные районы, совершенствуя таким образом аквакультуру в этих районах. Спермии является наиболее подходящим для глубокого замораживания видом клеток, так как генетический материал в них плотно упакован, содержание воды, с замерзанием которой связано основное повреждение клетки, мало и уровень жизнедеятельности в неподвижном состоянии низок.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили в НЦ «Разведение ценных пород осетровых» Волгоградского ГАУ в 2020-2022 гг. Для проведения исследования использовали сперму русского осётра, полученную в научном центре методом Цветковой с соавторами. Сбор, закладка и хранение образцов в сосуде Дьюара, укомплектованного канистрами для размещения биоматериала, которые подвешиваются в сосуде на стеклопластиковых ручках для уменьшения теплопритока и получения максимального времени хранения при температуре жидкого азота, замораживание проводи-

ли в соответствии с «Положением о коллекционном генетическом низкотемпературном банке спермы рыб» и «Порядком сбора и закладки в низкотемпературный банк генетических коллекций спермы рыб», утвержденными Межведомственной ихтиологической комиссией. Также использовали полиэтиленовые контейнеры для замораживания и хранения объемом 1,5 и 0,6 мл, бинокулярный микроскоп Микромед, камеру Горяева, которые были необходимы для подсчета количества клеток в заданном объеме жидкости. В исследованиях по криоконсервации использовали сперму активностью 4 и 5 баллов. Криоконсервацию репродуктивных клеток проводили по разработанной ранее методике с использованием наиболее оптимальной криосреды. Сущность методики замораживания заключается в следующем. Замораживание биообъекта в парах азота происходит от начальной температуры до эвтектической. При достижении температуры значения криоскопической начинается этап кристаллообразования льда. Когда процесс кристаллообразования заканчивается, а температура по всему объему пробирки с биообъектом достигает эвтектической температуры, пробирку с биообъектом погружают в жидкий азот, продолжая ее замораживание до конечной температуры -196°C . После этого пробирку с биообъектом оставляют в жидком азоте для длительного хранения. Выдерживание образцов спермы русского осетра в жидком азоте проводили в течение 12 часов.

Результаты и обсуждение. В процессе криоконсервирования клетки подвергаются воздействию целого комплекса стрессовых факторов, которые вызывают структурные и функциональные изменения различных субклеточных систем. Данные процессы могут развиваться на этапе, предшествующем замораживанию, в зоне положительных температур в присутствии криопротекторов, а также под влиянием охлаждения или отогрева. Очевидно, что в основе успеха криоконсервации лежит разработка такой методики (а впоследствии и технологии), которая сможет обеспечить, достаточно надежную защиту целостности клеточных органелл после процессов замораживания-оттаивания, необходимый запас энергетических веществ, обеспечивающих начало обменных процессов в клетках и тканях после двойного температурного шока. Таким образом при замораживании семенной жидкости русского осетра в криосреде №1, время жизни спермиев при разбавлении в среднем составило 228,1 секунды, при дефростации – 134,6 секунды, при этом активность разбавленной спермы составила 57,8%, а дефростированной 43,8%. При криоконсервации в среде №2, в сравнении с криосредой №1, увеличилась активность и время жизни разбавленной спермы на 6,32% и 5,11%, дефростированной спермы на 4,95% и 4,43% соответственно. Использование криосреды №3 в сравнении с криосредой №1 не оказало значительного влияния на увеличение активности сперматозоидов в разбавленной и дефростированной семенной жидкости (3,38 и 2,22% соответственно), однако при этом было зафиксировано увеличение времени жизни сперматозоидов на 8,84% (разбавленная) и 8,21% (дефростированная). При использовании среды № 4, содержащей соевый лецитин, было зафиксировано, что в сравнении с криосредой №1, активность разбавленной спермы увеличилась на 13,55%, а дефростированной - на 10,6 %, при этом время жизни сперматозоидов увеличилось на 2,79 и 2,05%. Таким образом, внедрение результатов исследований позволит увеличить востребованность криотехнологий для больших объемов спермы, необходимых для формирования производственных криобанков. Результаты исследований приведены в рисунках 1, 2.

Из приведенных данных рисунков 1, 2 мы установили, что криосреда № 5 в сравнении с криосердой № 1 оказала положительное влияние как на активность, так и на время жизни сперматозоидов. Использование криосерды №6, в значительной степени повлияло на увеличение активности сперматозоидов в сравнении с базовой средой (№ 1). Криосреда № 7 в сравнении со средой № 1 оказала положительное влияние на повышение активности разбавленной и дефростированной семенной жидкости. Наилучшие результаты были зафиксированы при использовании криосреды №8 в сравнении с базовой средой № 1.

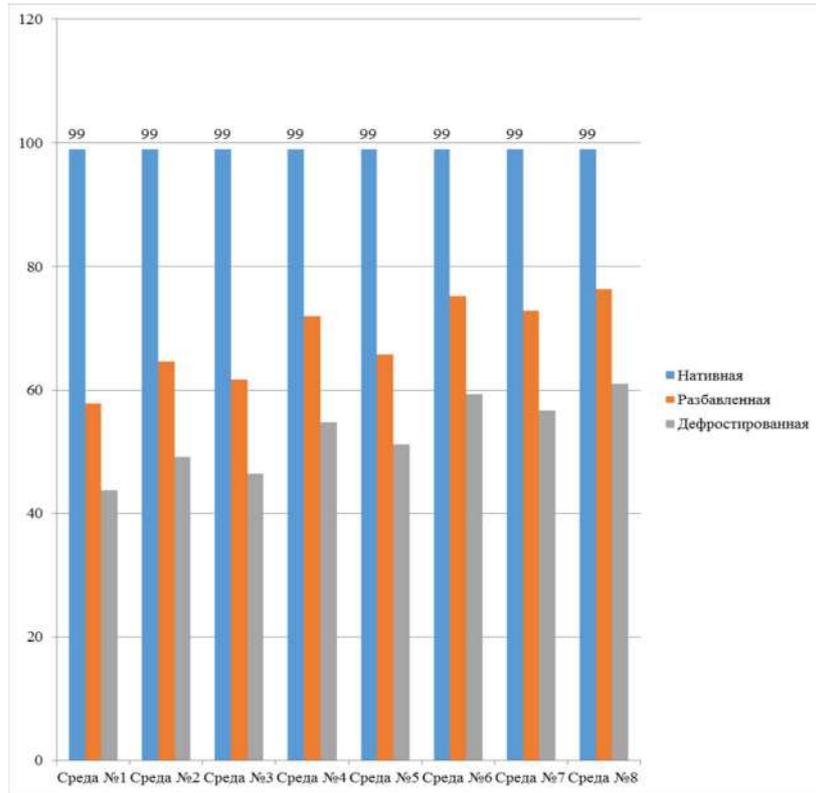


Рисунок 1 – Активность сперматозоидов русского осетра при использовании различных криосред
Figure 1 – The activity of Russian sturgeon spermatozoa using various cryogenic media

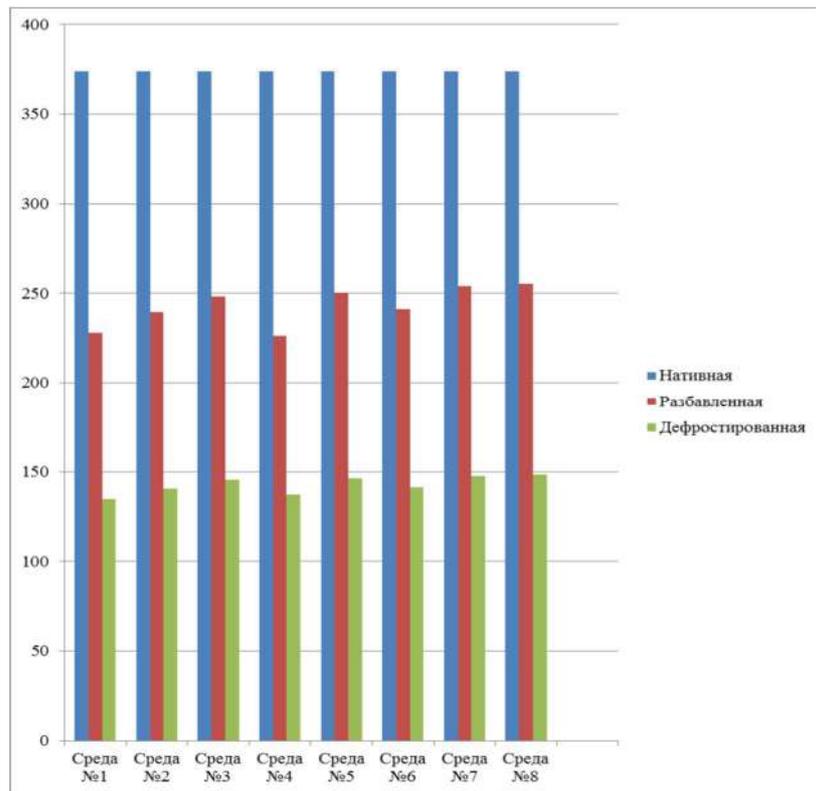


Рисунок 2 – Выживаемость сперматозоидов русского осетра при использовании различных криосред
Figure 2 – Survival of Russian sturgeon spermatozoa using various cryogenic media

Заключение. Анализируя результаты наших исследований по выживаемости и активности сперматозоидов русского осетра при использовании различных криосред, мы установили, что показатели в криосреде № 5 в сравнении с данными криосерды №1 были выше в разбавленной семенной жидкости на 7,2 и 9,76%, а в дефростированной – на 6,97 и 8,62% соответственно. В криосреде №6 активность разбавленной семенной жидкости увеличилась на 16,78%, а дефростированной – на 15,21%, время жизни увеличилось на 5,79 и 5,18% соответственно. Что касается криосреды №7, то мы наблюдали активность семенной жидкости на 14,46 и 12,54% выше, а также увеличение времени жизни на 11,42 и 9,77%. Криосреда №8 в сравнении с контрольной показывает, что активность сперматозоидов увеличилась на 18,03 и 16,86% в разбавленной и дефростированной семенной жидкости, а время жизни увеличилось на 11,9 и 10,37%. Таким образом, наилучшие показатели активности и времени жизни были зафиксированы при использовании среды №8. Поэтому при криоконсервации необходимо отбирать сперму только высокого качества, отвечающую стандартным рыбоводным показателям.

Conclusions. Analyzing the results of our studies on the survival and activity of Russian sturgeon spermatozoa using various cryogenic media, we found that the indicators in cryo-medium No. 5 in comparison with the data of cryo-heart No. 1 were higher in diluted seminal fluid by 7.2 and 9.76%, and in defrosted by 6.97 and 8.62, respectively. In cryoheart No. 6, the activity of diluted seminal fluid increased by 16.78%, and defrosted by 15.21%, and the lifetime increased by 5.79 and 5.18%, respectively. As for the cryo-medium No. 7, we observed the activity of the seminal fluid by 14.46 12.54%, as well as an increase in the life time by 11.42 and 9.77%. Cryo-medium No. 8 in comparison with the control shows that the activity of spermatozoa increased by 18.03 and 16.86% in diluted and defrosted seminal fluid, and the life time increased by 11.9 and 10.37%. Thus, the best indicators of activity and life time were recorded when using medium No. 8. Therefore, during cryopreservation, it is necessary to select only high quality sperm that meets standard fish breeding parameters.

Библиографический список

1. Белая М. М., Красильникова А. А. Влияние скорости замораживания на рыбоводные качества спермы осетровых рыб // Вестник Астраханского государственного технического университета. Рыбное хозяйство. 2019. № 1. С. 83–90.
2. Васильева Л. М., Судакова Н. В. Основные направления российского осетроводства // Рыбное хозяйство. 2020. № 4. С. 19-21.
3. Красильникова А. А., Тихомиров А. М. Получение жизнеспособной молоди русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) при использовании криоконсервированной спермы и оценка поведенческих реакций у криопотомства // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53. № 4. С. 762-768.
4. Красильникова А. А., Тихомиров А. М. Объем замораживаемого образца как один из факторов выживаемости сперматозоидов осетровых видов рыб при криоконсервации // Естественные науки. 2019. № 2. С. 62-69.
5. Красильникова А. А., Тихомиров А. М. Альтернативные способы подготовки сперматозоидов рыб к замораживанию при сверхвысоких значениях скорости охлаждения // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2020. № 2. С. 72–78.
6. Криоконсервация репродуктивных клеток рыб: история и перспективы / Е. Н. Пономарева, А. А. Красильникова, А. В. Фирсова, М. М. Белая // Рыбное хозяйство. 2019. № 4. С. 85–88.
7. Фирсова А. В. Действие обволакивающих криопротекторов и их плотности на икру рыб при ее криоконсервации // Естественные науки. 2017. № 4 (53). С. 116-119.
8. Фирсова А. В. Подбор температурных режимов замораживания при криоконсервации яйцеклеток белорыбицы // Естественные науки. 2017. № 4 (61). С. 182-185.
9. Чипинов В. Г., Джаригаев Е. С., Болонина Н. В. Оценка качества спермы осетровых рыб различными методами и опыт ее низкотемпературной консервации // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2019. № 1. С. 140–143.
10. Cryoprotective effect of phosphorouscontaining phenolic anti-oxidant for the cryopreservation of beluga sperm / V. P. Osipova, M. N. Kolyada, E. N. Ponomareva, M. M. Belaya, N. T. Berberova, E. R. Milaeva // Cryobiology. 2014. V. 69. № 3. P. 467-472.

11. Development of sperm vitrification protocols for freshwater fish (Eurasian perch, *Perca fluviatilis*) and marine fish (European eel, *Anguilla anguilla*) / E. Kása [et al.] // *General and Comparative Endocrinology*. 2017. Vol. 245. P. 102–107.

12. Effectiveness of glucose-methanol extender for cryopreservation of *Huso huso* spermatozoa / M. S. Aramli [et al.] // *Anim. Reprod. Sci.* 2021. V. 162. P. 37–42.

References

1. Belaya M. M., Krasilnikova A. A. The effect of freezing speed on the fish-breeding qualities of sperm of sturgeon fish // *Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Fisheries*. 2019. No. 1. Pp. 83-90.

2. Vasilyeva L. M., Sudakova N. V. The main directions of Russian sturgeon breeding // *Fisheries*. 2020. No. 4. Pp. 19-21.

3. Krasilnikova A. A., Tikhomirov A.M. Obtaining viable juvenile Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) using cryopreserved sperm and assessment of behavioral reactions in cryopotomy // *Agricultural biology*. 2018. Vol. 53. No. 4. Pp. 762-768.

4. Krasilnikova A. A., Tikhomirov A.M. The volume of the frozen sample as one of the factors of survival of spermatozoa of sturgeon fish species during cryopreservation // *Natural sciences*. 2019. No. 2. Pp. 62-69.

5. Krasilnikova A. A., Tikhomirov A.M. Alternative methods of preparing fish spermatozoa for freezing at ultra-high cooling rates // *Bulletin of the AGTU. Series: Fisheries*. 2020. No. 2. Pp. 72-78.

6. Cryopreservation of fish reproductive cells: history and prospects / E. N. Ponomareva, A. A. Krasilnikova, A.V. Firsova, M. M. Belaya // *Fisheries*. 2019. № 4. Pp. 85-88.

7. Firsova A.V. The effect of enveloping cryoprotectors and their density on fish eggs during its cryopreservation // *Natural sciences*. 2017. No. 4 (53). Pp. 116-119.

8. Firsova A.V. Selection of freezing temperature regimes during cryopreservation of white fish eggs // *Natural Sciences*. 2017. No. 4 (61). pp. 182-185.

9. Chipinov V. G., Dzharigazov E. S., Bolonina N. V. Assessment of the quality of sperm of sturgeon fish by various methods and experience of its low-temperature conservation // *Bulletin of ASTU. Series: Fisheries*. 2019. No. 1. Pp. 140-143.

10. Cryoprotective effect of phosphorouscontaining phenolic anti-oxidant for the cryopreservation of beluga sperm / V. P. Osipova, M. N. Kolyada, E. N. Ponomareva, M. M. Belaya, N. T. Berberova, E. R. Milaeva // *Cryobiology*. 2014. V. 69. № 3. Pp. 467-472.

11. Development of sperm vitrification protocols for freshwater fish (Eurasian perch, *Perca fluviatilis*) and marine fish (European eel, *Anguilla anguilla*) / E. Kása [et al.] // *General and Comparative Endocrinology*. 2017. Vol. 245. Pp. 102–107.

12. Effectiveness of glucose-methanol extender for cryopreservation of *Huso huso* spermatozoa / M. S. Aramli [et al.] // *Anim. Reprod. Sci.* 2021. V. 162. P. 37–42.

Информация об авторах

Ранделин Дмитрий Александрович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Водные биоресурсы и аквакультура», ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ (РФ, 400002, г. Волгоград, проспект Университетский, д. 26), e-mail: randelin_dm@mail.ru

Давудова Туркан Мушфиг кызы, преподаватель кафедры «Ветеринарно-санитарная экспертиза, заразные болезни и морфология», ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ (РФ, 400002, г. Волгоград, проспект Университетский, д. 26), тел: +7 902 659 79 49, e-mail: davudovaturkan@mail.ru

Новокщёнова Анна Ивановна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура», ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ (РФ, 400002, г. Волгоград, проспект Университетский, д. 26), e-mail: anna.gustowa2012@yandex.ru

Кравченко Юрий Владимирович, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура», ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ (РФ, 400002, г. Волгоград, проспект Университетский, д. 26), e-mail: uriy34rus@mail.ru

Агапова Василина Николаевна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура», ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ (РФ, 400002, г. Волгоград, проспект Университетский, д. 26), e-mail: v.agarova@volgau.com

Authors Information

Randelin Dmitry Aleksandrovich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Aquatic Bioresources and Aquaculture, Volgograd State Agrarian University (400002, Volgograd, Universitetsky Avenue, 26), e-mail: randelin_dm@mail.ru

Davudova Turkan Mushfig kyzy, Teacher of the Department "Veterinary and sanitary examination, infectious diseases and morphology" Volgograd State Agrarian University (400002, Volgograd, Universitetsky Avenue, 26), tel: +7 902 659 79 49, e-mail: davudovaturkan@mail.ru

Novokshchenova Anna Ivanovna, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor of the Department of Aquatic Bioresources and Aquaculture, Volgograd State Agrarian University (400002, Volgograd, Universitetsky Avenue, 26), e-mail: anna.gustowa2012@yandex.ru

Kravchenko Yuri Vladimirovich, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor of the Department of Aquatic Bioresources and Aquaculture, Volgograd State Agrarian University (400002, Volgograd, Universitetsky Avenue, 26), e-mail: uriy34rus@mail.ru

Agapova Vasilina Nikolaevna, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor of the Department of Aquatic Bioresources and Aquaculture, Volgograd State Agrarian University (400002, Volgograd, Universitetsky Avenue, 26), e-mail: v.agapova@volgau.com

DOI: 10.32786/2071-9485-2023-03-31

**MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF MAMMARY GLAND NEOPLASMS
IN BITCHES OF VARIOUS BREEDS**

N. A. Tatarnikova¹, K. A. Sidorova², O. V. Kochetova³, T. A. Yurina²

¹ Perm State Agrarian and Technological University named after Academician
D.N. Pryanishnikov

Perm, Russian Federation

² State Agrarian University of the Northern Trans-Urals
Tyumen, Russian Federation

³ Perm Institute of the Federal Penitentiary Service
Perm, Russian Federation

Corresponding author E-mail: sidorova.clavdiya@yandex.ru

Received 04.03.2023

Submitted 15.06.2023

Summary

The article is devoted to the study of breast cancer in dogs - a common oncological disease in veterinary medicine. The paper analyzes in detail the factors predisposing to the development of this disease and the effect of the tumor on the functioning of the pet's body. The methods of classification and diagnosis of the tumor, including puncture biopsy and photofixation, are described. Histological examination of the breast and adjacent tissues is performed. The results of the study indicate that adenomatosis in dogs is more common than other pathologies and may be associated with various disorders in the sexual cycle.

Abstract

Introduction. Breast cancer in dogs makes up a significant proportion of all cancers, so this type of tumor requires careful and detailed study. Predisposing factors play an important role in the occurrence of tumors. The disease is characterized by a violation of all vital functions of the animal's body. **Materials and methods.** Mammary tumors in bitches were classified according to the TNM system (8th edition, 2017) as follows: T3 – tumor about 6 cm; N0 – regional lymph nodes cannot be palpated; M0 – no signs of distant metastases. Puncture at the sites of tumors was taken using standard selection methods using the puncture biopsy technique, and photographic recording was performed. Puncture at the sites of tumors was taken using standard selection methods using the puncture biopsy technique, and photographic recording was performed. For histological examination, a fragment of the mammary gland with a pathological area of skin, a nipple with adjacent tissues and a lymph node was taken. **Results and conclusions.** Adenomatosis in bitches occurs much more often (19 cases) than other mammary gland pathologies and can be associated with disruption of the reproductive cycle in bitches of various breeds of dogs for a number of reasons - changes in hormonal levels, concomitant diseases, lack of mating, etc.

Key words: mammary glands of dogs, tumors, diseases of dogs, treatment of breast cancer of dogs, oncological diseases of dogs.