



(19) **RU** (11) **2 223 643** (13) **C2**  
(51) МПК<sup>7</sup> **A 01 K 61/00**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2001126961/13, 08.10.2001  
(24) Дата начала действия патента: 08.10.2001  
(43) Дата публикации заявки: 10.06.2003  
(46) Опубликовано: 20.02.2004  
(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: SU 1286138 A1, 30.01.1987. SU 1274652 A1, 07.12.1986. SU 1746963 A1, 15.07.1992.  
**Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России. Материалы докладов научно-практической конференции, 24-27.09.2001. - КрасНИИРХ, 2001, с.190.**

Адрес для переписки:  
115583, Москва, ул. Воронежская, 8, корп.3,  
кв.224, Г.В. Кулакову

(71) Заявитель(и):  
**Закрытое акционерное общество "КУЛ"**  
(72) Автор(ы):  
**Кулаков Г.В.,  
Панин А.Н.,  
Панасенко В.В.,  
Скляров В.Я.,  
Крюков В.С.,  
Илиеш В.Д.**  
(73) Патентообладатель(ли):  
**Закрытое акционерное общество "КУЛ"**

(54) СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ЖИЗНЕСТОЙКОСТИ ИКРЫ, ЛИЧИНОК, МОЛОДИ РЫБ И АКСЕЛЕРАЦИИ ИХ РОСТА

(57) Реферат:  
Изобретение относится к рыбоводству и может найти применение на предприятиях по разведению и воспроизводству рыб. Оплодотворенную икру инкубируют и подвергают обработке пробиотическим препаратом "Субтилис", полученным из биомассы штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В-2250 Д, в количестве 14-16 мл на 1000 экз., который вносят в оплодотворенную икру не

позднее 1,5 ч от начала инкубации. Обработку личинок проводят в момент перехода на экзогенное питание. Обработка икры, эмбрионов и личинок "Субтилисом" увеличивает коэффициент выживаемости и снижает естественную смертность рыб на личиночной стадии развития, способствует стимуляции жизнестойкости рыб на ранних этапах онтогенеза и напряженности естественного иммунитета. 2 табл.

RU 2 2 2 3 6 4 3 C 2

RU 2 2 2 3 6 4 3 C 2



RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** (11) **2 223 643** (13) **C2**  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup> **A 01 K 61/00**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2001126961/13, 08.10.2001**

(24) Effective date for property rights: **08.10.2001**

(43) Application published: **10.06.2003**

(46) Date of publication: **20.02.2004**

Mail address:  
**115583, Moskva, ul. Voronezhskaja, 8,  
korp.3, kv.224, G.V. Kulakovu**

(71) Applicant(s):  
**Zakrytoe aktsionernoe obshchestvo "KUL"**

(72) Inventor(s):  
**Kulakov G.V.,  
Panin A.N.,  
Panasenko V.V.,  
Skljarov V.Ja.,  
Krjukov V.S.,  
Iliesh V.D.**

(73) Proprietor(s):  
**Zakrytoe aktsionernoe obshchestvo "KUL"**

(54) **METHOD FOR INCREASING VIABILITY OF CAVIAR, LARVAE, YOUNG FISHES AND ACCELERATION OF THEIR GROWTH**

(57) Abstract:

FIELD: pisciculture. SUBSTANCE: the present innovation could be applied at enterprises dealing with fish breeding and fish reproduction. Fertilized caviar is incubated and treated with probiotic preparation named "Subtilis" obtained out of Bacillus subtilis VKM V-2250 D strain biomass at the quantity of 14-16 ml/1000 ex and introduced into fertilized caviar not later than 1.5 h against the onset of incubation. Treatment

of larvae is conducted at the moment of changing for exogenous nutrition. Treatment of caviar, embryos and larvae with "Subtilis" preparation increases viability coefficient and decreases natural lethality in fishes at larval stage of development, provides life resistance stimulation in fishes at early stages of ontogenesis and intensity of natural immunity. EFFECT: higher efficiency. 2 ex, 2 tbl

RU 2 2 2 3 3 6 4 3 C 2

RU 2 2 2 3 3 6 4 3 C 2

Изобретение относится к рыбоводству, а именно способам обработки икры и личинок рыб для повышения жизнестойкости икры, личинок, молоди рыб и акселерации их роста, и может найти применение на предприятиях по разведению и воспроизводству рыб.

5 В настоящее время для повышения жизнеспособности и выживаемости рыб на ранних стадиях развития широко известно использование биологически активных веществ, влияющих на физиологические процессы у рыб путем обработки икры, личинок и молоди этими веществами (SU 1243667, кл. А 01 К 61/00, RU 2115308 С1, кл. А 01 К 61/00, 1998).

Известен способ профилактики заболеваний икры и молоди рыб сапролегнией, согласно которому икру рыб во время оплодотворения выдерживают в растворе иммуномодулятора, в качестве которого используют 1-->3; 1--> -β-D-глюканы в концентрациях 100-1000 мкг/мл. 10 Способ обработки обеспечивает сохранность икры при транспортировке, увеличивает жизнеспособность зародышей и мальков. Однако данный способ эффективен только в отношении сапролегниевых грибов (RU 2081575 С1, кл. А 01 К 61/00, 20.06.1997).

Известен способ обработки икры осетровых рыб после обесклеивания икры пара-аминобензойной кислотой для повышения ее устойчивости к нарушениям условий внешней среды, снижения процента гибели развивающихся эмбрионов, стимуляции продуктивности и адаптации осетровых рыб. Этот способ предназначен только для осетровых рыб, его использование в промышленных условиях невозможно. (RU 2073971 С1, кл. А 01 К 61/00, 27.02.1997).

20 Известен способ стимуляции физиологических процессов у рыб на ранних стадиях развития, согласно которому икру и личинки рыб, преимущественно лососевых, выдерживают в растворе биологически активного вещества даларгин в течение 1-4 часов при концентрации даларгина в воде 1-10 мг/л. Даларгин (Dalarginum) - Тирозил-2-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинин. Пептидное соединение, состоящее из остатков 6 25 аминокислот (гексапептид). Выпускается в виде диацетата ( $X=2CH_3COOH$ ). Белый аморфный порошок, легко растворим в воде и спирте. Увеличивает жизнеспособность икры и личинок, стимулирует их рост. (SU 1286138, кл. А 01 К 61/00, 1987). Этот способ выбран в качестве ближайшего аналога заявленного изобретения.

Задачей, на решение которой направлено изобретение, является разработка 30 эффективного и простого в выполнении способа обработки икры и личинок рыб для повышения жизнестойкости и акселерации их роста.

Технический результат, достигаемый от реализации изобретения, заключается в повышении эффективности выживаемости и жизнеспособности эмбрионов, личинок, молоди рыб, увеличения среднего веса особей, ускорение процесса органогенеза у 35 личинок, а главное - повышение жизнестойкости рыб на ранних стадиях онтогенеза.

Для этого оплодотворенную икру инкубируют и подвергают обработке пробиотиком "Субтилис", полученным из биомассы штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В-2250 Д в количестве 14-16 мл на 1000 экземпляров, при этом предпочтительно обработку оплодотворенной икры проводят через 1-1,5 часа после ее инкубации, а обработку личинок проводят в 40 момент ее перехода на экзогенное питание.

Установлено, что "Субтилис" способствует стимуляции не только продуктивности, адаптивности и жизнеспособности рыб, но стимулирует жизнестойкость рыб на ранних этапах онтогенеза и повышает напряженность естественного иммунитета.

45 Лекарственная форма пробиотика "Субтилис" содержит 80-90% микробных клеток бактерий *Bacillus subtilis* ВКМ В-2250 Д. Пробиотик обладает специфической активностью: в одной дозе препарата содержится (15-20) млрд. микробных клеток/мл (Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России, материалы докладов научно-практической конференции, 2001 КрасНИИРХ, (с.190).

Экспериментальным путем установлено, что пробиотический эффект "Субтилиса" имеет 50 дозозависимый характер.

Пример 1.

Опыты по обработке оплодотворенной икры пробиотиком осуществляли в трех вариантах. Для этого отбирали по 3000 экземпляров эмбрионов на стадии 4-8 бластомер и

помещали в кристаллизаторы.

Во всех вариантах опыты ставились в трех сериях. Результаты представлены в табл. 1. Каждая серия отличалась между собой количествами внесенного в опыт "Субтилиса". В 1-ой серии опыта эмбрионы и личинки инкубировали с добавлением 5 мл, во 2-ой - 10 мл и  
 5 в 3-ей - 15 мл субтилиса из расчета на 1000 экземпляров. Обработку эмбрионов пробиотиком в 1-ом варианте проводили через 1.5 часа после начала инкубации на стадии 4-8 бластомер; во 2-ом - в момент перехода личинок на экзогенное питание; в 3-ем -  
 через 10 дней после перехода личинок на полное экзогенное питание. Во всех вариантах опытов эмбрионы и личинки первоначально содержались в 1-литровых банках в течение 1-  
 10 2 часов, а затем их вместе с содержимым банки переносили в 10 литровые аквариумы до конца периода наблюдения. В процессе эксперимента, после перехода личинок на экзогенное питание, рыб подкармливали сначала яичным желтком, затем дафниями.

Контроль за характером развития и выживания эмбрионов и личинок осуществляли ежедневно. Основное внимание обращалось на темпы развития личинок и динамику их  
 15 гибели.

Проведенные исследования показали, что предварительная обработка эмбрионов и личинок "Субтилисом" увеличивает коэффициент их выживаемости и снижает естественную смертность рыб на личиночной стадии развития.

После обработки эмбрионов и личинок в дозе 5 мл на 1000 экземпляров в 1-ом варианте  
 20 выжило 65%, во 2-ом - 59%, в 3-ем - 36%. Среди рыб, получивших 10 мл "Субтилиса", соответственно остались в живых: в 1-ом варианте - 75%, во 2-ом - 74%, в 3-ем - 40% рыб. При внесении 15 мл пробиотика выжило в 1-ом варианте - 77%, во 2-ом - 75%, в 3-ем - 45% экземпляров.

В контроле количество выживших рыб без обработки "Субтилисом" было более чем в 2-3  
 25 раза ниже, чем в опыте и соответственно равнялось 27%.

Патологоанатомический анализ личинок показал, что у всех погибающих и погибших личинок отмечено интенсивное развитие сапролегний. Максимальная гибель личинок в основном установлена в промежутках между 10-22 днями после начала перехода личинок на экзогенное питание. У более 70-80% рыб в первом и во втором вариантах опыта  
 30 процесс органогенеза завершается быстрее, чем у контрольных.

Обработка "Субтилисом" повышает жизнестойкость рыб на ранних этапах онтогенеза и напряженность естественного иммунитета. Под влиянием "Субтилиса" процесс органогенеза у личинок ускоряется.

Пример 2.

В крупном рыбноводческом хозяйстве проводили испытания предложенного способа в  
 35 производственных условиях. Для этого оплодотворенную икру в количествах от 350 до 500 г загружали в аппарат Вета и перемешивали в течение 5-10 мин. После чего добавляли пробиотик "Субтилис" в необходимых количествах. Результаты испытаний представлены в табл. 2. Во всех испытанных группах результаты подтверждают высокую эффективность  
 40 пробиотика.

По сравнению с контролем увеличены выход личинок, выход молоди, средний вес (навеска) молоди. Особо необходимо отметить эффективность обработки пробиотиком перезревшей (испорченной) икры.

45 **Формула изобретения**

Способ повышения жизнестойкости икры, личинок, молоди рыб и акселерации их роста, предусматривающий однократную обработку икры биологически активным веществом, отличающийся тем, что икру оплодотворяют, инкубируют до получения эмбрионов и личинок и обрабатывают биологически активным веществом, в качестве которого  
 50 используют пробиотический препарат "Субтилис", полученный из биомассы штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В-2250 Д, в количестве 14-16 мл на 1000 экземпляров, при этом оплодотворенную икру обрабатывают не позднее 1,5 ч после начала инкубации, а личинки - в момент перехода на экзогенное питание.

Результаты испытаний «Субтилиса» для обработки оплодотворенной икры и личинок *Carassius carassius*.L.

Вариант	Объект обработки	Время обработки	Процент выживших при дозе «Субтилиса» на 1000 экземпляров			
			5 мл	10 мл	15 мл	0 мл (контроль)
1	Икра	1,5 часа после начала инкубации	65	75	77	27
2	Личинка	Момент перехода на экзогенное питание	59	74	75	27
3	Личинка	10 суток после перехода на экзогенное питание	36	40	45	27

Таблица 2  
 Результаты испытания предложенного способа в производственных условиях рыбхоза.

№ партии	Дата	Температура воды, °С	Количество икры, г		Выход личинок, %		Выход молоди с прудов и средний вес, г				
			Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт		Контроль		
								Выход, %	Навеска	Выход, %	Навеска
1.	13.06	18,8	450	450	97	73	74	5,4	66	4,6	
2.	13.06	18,8	500	500	86	71	96	6,8	93	5,1	
3.	26.06	19,5	500	500	74	58	70	1,8	70	1,3	
4.	26.06	19,5	350	350	18	12	54	1,9	31	1,8	
5.	26.06	19,5	450	450	90	74	84	1,6	76	1,4	

Примечание: партия икры № 4 перезревшая.