



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: **2003125470/12, 18.08.2003**

(24) Дата начала действия патента: **18.08.2003**

(43) Дата публикации заявки: **27.02.2005**

(45) Опубликовано: **27.09.2005 Бюл. № 27**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **БОЙКО Н.Е. "Динамика тиреоидных гормонов в эмбриогенезе и раннем онтогенезе осетра", Сборник научных трудов (1993 - 1995 г.г.) Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна. Ростов-на-Дону, 1997. KIM B.G. BROWN C.L. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of pacific(см. прод.)**

Адрес для переписки:

**344007, г.Ростов-на-Дону, ул. Береговая,  
 21/2, ФГУП АзНИИРХ, рук. гр. ИС С.М. Марнову**

(72) Автор(ы):

**Бойко Н.Е. (RU),  
 Корниенко Г.Г. (RU),  
 Рудницкая О.А. (RU)**

(73) Патентообладатель(ли):

**Федеральное Государственное Унитарное  
 предприятие Азовский научно-  
 исследовательский институт рыбного хозяйства  
 (RU)**

## (54) СПОСОБ ПОДРАЩИВАНИЯ ЛИЧИНОК ОСЕТРОВЫХ РЫБ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области рыбоводства. Подращивание личинок осетровых рыб включает гормональную их обработку после выклева путем погружения на 1 час в раствор с тиреоидным гормоном и кортизолом, последний в концентрации - 0,1 мг/л. В качестве тиреоидного

гормона используют тироксин в концентрации 1,5 мг/л в сочетании с кортизолом, а гормональную обработку проводят на 44 стадии развития личинок, предшествующей выбросу меланиновой пробки и переходу на активное питание. Способ позволяет стимулировать развитие осетровых рыб. 3 ил., 2 табл.

(56) (продолжение):

threadfin.// Amer. Zool. 1997. V. 37. P.470-481. BOIKO N.E., KORNIENKO G.G., VOROBYEVA O.A. Cortisol and thyroid hormones at early stages of the development of the russion sturgeon, *Acipenser guldenstadti* Brandt// J. Environmental Protection and Ecology, 2002, № 3.



Фиг. 1

RU 2260943 C2

RU 2260943 C2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2003125470/12, 18.08.2003**

(24) Effective date for property rights: **18.08.2003**

(43) Application published: **27.02.2005**

(45) Date of publication: **27.09.2005 Bull. 27**

Mail address:

**344007, g.Rostov-na-Donu, ul. Beregovaja,  
21/2, FGUP AzNIIRKh, ruk. gr. IS S.M. Marnovu**

(72) Inventor(s):

**Bojko N.E. (RU),  
Kornienko G.G. (RU),  
Rudnitskaja O.A. (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe Gosudarstvennoe Unitarnoe  
predprijatje Azovskij nauchno-  
issledovatel'skij institut rybnogo khozjajstva (RU)**

(54) **METHOD FOR GROWING OF STURGEON FISH LARVA**

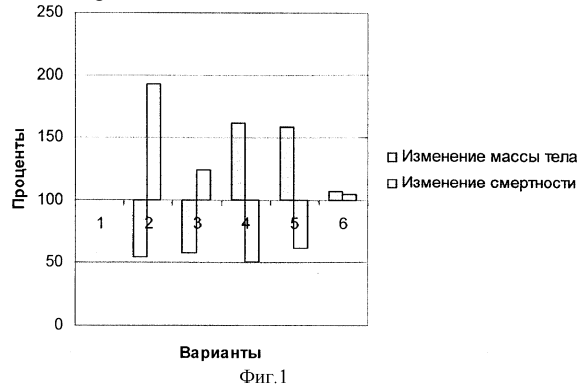
(57) Abstract:

FIELD: fish farming.

SUBSTANCE: method involves providing hormone treatment of sturgeon larva after pecking out by dipping thereof for 1 hour into solution containing thyroid hormone and cortisol, the latter being used in concentration of 0.1 mg/l. Thyroid hormone is thyroxin used in concentration of 1.5 mg/l in combination with cortisol. Hormone treatment process is carried out at 44<sup>th</sup> larva development stage preceding rejection of melanin suber and transition to active feeding.

EFFECT: increased efficiency by stimulating development of sturgeon fish.

3 dwg, 2 tbl, 6 ex



RU 2 2 6 0 9 4 3 C 2

RU 2 2 6 0 9 4 3 C 2

Изобретение относится к области рыбоводства и может быть использовано при индустриальном выращивании осетровых рыб.

Улучшение качества «заводской» молоди, повышение ее адаптивных свойств является одной из основных задач осетроводства.

5 У осетровых рыб, как и у других позвоночных, тиреоидные гормоны (тироксин, Т4 и трийодотиронин, Т3) и глюкокортикоиды, в частности кортизол, присутствуют в организме, начиная с яйцеклетки.

10 На 3-4 день после выклева из оболочек базовые уровни как тироксина, так и кортизола увеличиваются и достигают максимума незадолго до перехода на активное питание (43-44 стадии). Уровни трийодотиронина изменяются незначительно.

Это свойство и предлагается использовать для стимуляции развития осетровых рыб.

15 Наиболее близким по технической сущности (прототип) является способ подращивания личинок морских рыб, включающий гормональную обработку личинок на стадии выклева путем погружения на 1 час в специальные емкости с трийодотиронином в концентрации 2,6 мг/л в комплексе с кортизолом в концентрации 0,1 мг/л [1].

У обработанных личинок ускоренно развивались кишечник и почки, уменьшились колебания размерно-весовых показателей, несколько увеличилась выживаемость, хотя скорость роста не изменилась.

20 Недостатком известного способа является его невысокая эффективность при использовании больших доз Т3, а также отсутствие учета сроков естественного изменения (базового) гормонального фона в организме рыб.

25 Целью настоящего изобретения является разработка физиологически адекватных эндокринных методов воздействия, позволяющих снизить потери при заводском воспроизводстве, а также корректировка роста и развития рыб, в том числе и посредством увеличения их жизнестойкости.

Эта цель достигается тем, что гормональную обработку личинок проводят путем погружения на 1 час в раствор тироксина концентрацией 1,5 мг/л в сочетании с кортизолом концентрацией 0,1 мг/л на стадии, предшествующей выбросу меланиновой пробки и перехода на активное питание (44 стадия развития).

30 Отличительные признаки изобретения состоят в том, что личинок обрабатывают не трийодотиронином, а его предшественником - тироксином и дозой, почти в 2 раза меньшей чем в прототипе, не на стадии выклева, а на стадии выброса меланиновой пробки и перехода на активное питание (44 стадия).

35 Выбор данных стадий не случаен. Известно, что в постэмбриональный период онтогенеза гормональная составляющая является основой «критических» периодов развития, определяющих жизнестойкость и формирование некоторых систем адаптации. Таким образом, естественное изменение гормонального фона тироксина в этот период у личинок осетровых дает возможность дополнительного воздействия тиреоидными гормонами для повышения выживаемости и жизнестойкости и, как следствие, ускорения роста.

40 У личинок осетровых, получаемых в аквакультуре методом гипофизарных инъекций, имеется значительная разнокачественность по размерам и выживаемости, причем худшими показателями отличаются особи, выклевающиеся из менее качественной икры; а в дальнейшем их подращивание характеризуются высокими отходами и относительно замедленным ростом. Одновременно нами у посадочного материала на ранних этапах онтогенеза обнаружена дифференцировка по уровню активности определенных гормональных систем, которая является основой разнокачественности [2, 3, 4].

45 Высокий гормональный статус у личинок осетровых рыб до перехода их на экзогенное питание определяет в дальнейшем усиленный рост молоди, а также расширяет их адаптационные возможности.

Способ иллюстрирован двумя таблицами и тремя фигурами.

50 На фиг.1 изображен диапазон изменений смертности и массы у подращиваемой молоди осетра в конце эксперимента в примерах 1-6 (включая контроль).

На фиг.2 в схематическом виде показано изменение лейкоцитарной формулы (вверху), индекс сдвига лейкоцитов, интенсивность эритропоэза и процент патоморфологических изменений у осетра к концу эксперимента в примерах 1-5, включая контроль и физиологическую «норму» по литературным и нашим данным [6, 7].

5 На фиг.3 в схематическом виде показана базовая динамика тироксина, Т4 и трийодтиронина, Т3 у предличинок осетра в норме и указан период развития личинок, наиболее благоприятный для корректирующего воздействия гормональным комплексом Т4+кортизол. Базовая динамика кортизола на чертеже не указана.

Примеры осуществления способа.

10 Опыты проводили на предличинках и личинках Азово-Черноморского осетра (*Acipenser guldenshtadti* Br.), получаемых методом гипофизарных инъекций от производителей на ОРЗ «Взморье» в нижнем течение р. Дон. Гормональная обработка выключившихся предличинок производилась на стадиях от 38 до 44, личинок - через 4 дня после начала питания и заключалась в кратковременном погружении (1 час) в специальные  
15 аэрируемые емкости, с определенной концентрацией одной из форм тиреоидного гормона (Т4 или Т3) в диапазоне концентраций от 2,6 до 1,5 мг/л в комплексе с кортизолом, 0,1 мг/л. Плотность посадки личинок при обработке - 100 шт/л. Затем рыб пересаживали в чистую воду и вели подращивание при постоянной аэрации и ежедневной смене 1/4 объема воды с плотностью посадки не более 3 шт/л. В ходе эксперимента производили  
20 контроль уровня гормонов, который достигал базовых значений через сутки после обработки рыб.

За время опытов предличинки перешли на активное питание (личиночный этап развития). Рыб кормили три раза в день живыми кормами (олигохеты) и подращивали в течение 18-ти дней. Общая продолжительность экспериментов - 26-28 дней.

25 Проведено три серии экспериментов, каждый в двух повторностях. Температура при проведении экспериментов 18-22°C.

Личинки в трех сериях экспериментов, полученных методом гипофизарной инъекции от производителей различного качества, имели различную (высокую и низкую) степень  
30 выживаемости и различную массу тела. Так, диапазон изменений массы тела у рыб в контроле в различных сериях экспериментов после 18 суток кормления составил 234 - 370 мг; диапазон изменений смертности - от 7 до 30,7 шт. на 100 шт., т.е. 7-30,7%. Чтобы иметь возможность сравнивать полученные результаты, абсолютные величины обоих показателей в контроле были приняты за 100% (контроль). Расчет примеров произведен по отношению к контролю (в %).

35 Морфологические параметры подращиваемой молоди осетра после обработки гормональным комплексом.

Пример 1 - контроль. Масса принята - 100%, смертность - 100%.

Пример 2. Гормональную обработку предличинок проводили Т4, 2,6 мг/л в сочетании с кортизолом 0,1 мг/л на 38 стадии развития (примерно сутки после выклева). Навеска по  
40 сравнению с контролем составила 54%, смертность составила 192,8%.

Пример 3. Аналогично примеру 2 гормональную обработку личинок проводили Т3, 2,6 мг/л в сочетании с кортизолом в концентрации 0,1 мг/л на ст. 38. Навеска по сравнению с контролем составила 57,2%, смертность - 123,7%.

45 Пример 4. Гормональную обработку предличинок проводили на 44 стадии (9 сутки) Т3, 2,6 мг/л + кортизол, 0,1 мг/л. Навеска по сравнению с контролем составила 160,8%, смертность - 61,9%.

Пример 5. Гормональную обработку предличинок проводили на 44 стадии (9 сутки) Т4, 1,5 мг/л + кортизол, 0,1 мг/л. Навеска по сравнению с контролем увеличилась - 158,7%, смертность - 61,9% от контроля.

50 Пример 6. Гормональную обработку Т4, 1,5 мг/л + кортизол, 0,1 мг/л проводили на этапе личинки, через 4 суток после начала питания (14-е сутки). Навеска по сравнению с контролем составила 107,1%, смертность - 61,9%.

Из таблицы 1 и фиг.1 видно, что после воздействия комплексом гормонов показатели

могут изменяться различным образом - уменьшаться или увеличиваться.

Варьирование эффекта обусловлено внутренними закономерностями развития осетровых, особенностью которых является базовое волнообразное изменение уровней тироксина (Т4) и кортизола (К) с единым максимумом на последних этапах предличиночного развития - так называемый, «критический период» развития.

Морфофизиологические параметры красной и белой крови как показатель состояния подращиваемой молодежи после обработки гормональным комплексом.

В таблице 2 и на фиг. 2 показаны клетки белой и красной крови у осетра к концу эксперимента (примеры 1-5). Обозначение примеров - те же, что и в таблице 1, фиг. 1.

По горизонтали обозначены примеры 1-5. Норма\* - показатели крови у осетра при переходе от личиночного этапа развития к мальковому в наиболее оптимальных условиях содержания [6, 7].

После обработки комплексом, включающим Т4 (пример 5), у подрастающей молодежи отмечены наиболее высокие показатели клеточного иммунитета, превзошедшие не только экспериментальные варианты (примеры 2-4), но и контрольный вариант (пример 1), о чем свидетельствует относительно высокий уровень лимфоцитов и снижение числа нейтрофилов; из всех представленных примеров в примере 5 индекс сдвига лейкоцитов оказался наименьшим. Дополнительно, рыбы в этом случае характеризовались почти полным отсутствием патоморфологических изменений (см. таблицу 2, нижнюю часть фиг. 2, разделы: уровень вакуолизации эритроцитов, наличие тромбоцитов в крови).

Интенсивность эритропоэза (соотношение зрелых и юных форм эритроцитов) у этих рыб максимально приближена к биологической «норме», т.е. показателям крови, которые наблюдаются у посадочного материала в наиболее оптимальных условиях содержания.

По сравнению с примером 5 после обработки личинок комплексом, содержащим Т3 (пример 4), у рыб в крови значительно увеличивается количество нейтрофилов (см. таблицу 2, фиг. 2); поскольку нейтрофилы активируются при фагоцитозе, это указывает на процессы восстановления после воспалительного процесса в организме.

Таким образом, согласно полученным данным действие Т3 в отличие от Т4 является более жестким и, следовательно, двойственным. С одной стороны, Т3 является мощным антиоксидантом, активирует репарационные процессы в организме, но и одновременно, вызывает усиление аэробной метаболической активности, что может способствовать образованию свободных радикалов и появлению патологических изменений в клетках [8], что и наблюдается в нашем случае.

На фиг. 3 схематически представлен период раннего онтогенеза у осетра, являющийся наиболее благоприятным для корректирующего воздействия гормональным комплексом. Видно, что из всего периода предличиночного развития - от выклева (ст. 36) до перехода на питание внешним кормом (ст. 45) наиболее благоприятной является обработка в период нисходящей части базовой динамики тироксина (Т4, ст. 44).

#### Заключение

Таким образом, способ подращивания личинок осетровых рыб является физиологически адекватным и способствует повышению выживаемости и стартового роста массы тела рыб. Стимуляция тироксином и кортизолом на 44 стадии развития наиболее эффективна при совмещении сроков обработки с высоким «базовым уровнем» гормонов - тироксина и кортизола. Гормональное воздействие в более раннем возрасте на 38 ст. или после перехода на активное питание не дает должного эффекта. В первом случае возникают побочные явления, выражающиеся в стимуляции патологических процессов в клетках крови и аномалиях развития (уродствах).

Предлагаемый способ подращивания личинок осетровых рыб позволяет скорректировать некоторые рыбоводно-физиологические параметры и особенно перспективен в замкнутых системах аквакультуры, где физиологическая и морфологическая разнокачественность рыб является отрицательным фактором.

Биологическая активность гормонального комплекса в раннем онтогенезе осетра проявляется:

- 1) в повышении жизнестойкости;
- 2) в повышении массы рыб;
- 3) в улучшении факторов гуморального иммунитета и обменных процессов у рыб, оцениваемых по показателям красной и белой крови;

5 Однако при одной и той же направленности биологического действия комплекса, включающего как Т4 (пример 5), так и Т3 (продукта биологического превращения Т4 в организме) (пример 4), использование первого (тироксина, Т4) в качестве одного из компонентов наиболее предпочтительно, поскольку:

- а) физиологически наиболее адекватно;
- 10 б) один и тот же эффект достигается при меньшей дозе;
- в) только у молоди, обработанной комплексом, включающем Т4, в дальнейшем наблюдаются наиболее благоприятные показатели гуморального иммунитета и отсутствие клеточной патологии.

Источники информации

15 1. KIM B.G., BROWN C.L. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of pacific threadfin.// Amer.Zool. 1997. V.37. P.470-481.

2. БОЙКО Н.Е., ВОРОБЬЕВА О.А. КОРНИЕНКО Г.Г., ГОРБАЧЕВА Л.Т. Тиреоидные гормоны и особенности роста и развития в раннем онтогенезе осетра //Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна. 1998, Ростов-на-Дону. С.286-293.

3. VOIKO N.E., KORNIENKO G.G., VOROBUEVA O.A. Cortisol and thyroid hormones at early stages of the development of the russion sturgeon, Acipenser guldenstadti Brandt //J.Environmental Protection and Ecology, 2002, No 3.

4. БОЙКО Н.Е., ВОРОБЬЕВА О.А., ГРИГОРЬЯН Р.А., КОРНИЕНКО Г.Г. Динамика тиреоидных гормонов на ранних стадиях развития осетра Acipenser guldenstadti Br. //Журн. эволюц. биохим. и физиол. 2003, №4 (в печати).

5. KIM B.G., BROWN C.L. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of pacific threadfin //Amer. Zool. 1997. Vol. 37. P. 470-481.

6. ГЕРШАНОВИЧ А.Д., ПЕГАСОВ В.А, ШАТУНОВСКИЙ М.И. Экология и физиологии молоди осетровых //М., 1987., 215 с.

7. ЖИТЕНЕВА Л.Д., РУДНИЦКАЯ О.А, КАЛЮЖНАЯ Т.И. Эколого-гематологические характеристики некоторых видов рыб. Справочник //Ростов-н/Д, 1997, 149 с.

8. HULBERT A.J. Thyroid hormones and their effects: a new perspective // Biol.Rev.2000.Vol. 75. P.519-631.

35

Таблица 1 Диапазон изменений смертности и массы у подращиваемой молоди осетра в конце эксперимента						
	ГОРМОНЫ, мг/л, 1 час		Возраст, сут. от выклева	Стадии развития	НАВЕСКА изменением %	СМЕРТНОСТЬ изменение, %
	тиреоидные (Т4,Т3)	кортизол				
Прототип (Kim, Brown, 1997)	Т3, 2,6	0,1	1-е	не указана	нет изменений	снижение
1	без обработки (контроль)				100	100
2*	Т4,2,6	0,1	2-е	38-я (предличинка)	54,0	192,8
3*	Т3, 2,6	0,1	2-е	38-я (предличинка)	57,2	123,7
4*	Т3, 2,6	0,1	9-е	44-я (предличинка)	160,8	50
5**	Т4,1,5	0,1	9-е	44-я (предличинка)	158,7	61,9
6**	Т4,1,5	0,1	14-е	4-дн. личинка	107,1	105,2

\* - личинки осетра с низким уровнем смертности (7%)  
\*\* - личинки осетра с относительно высоким уровнем смертности (30,7%)

50

## Клетки красной и белой крови у осетра в конце эксперимента

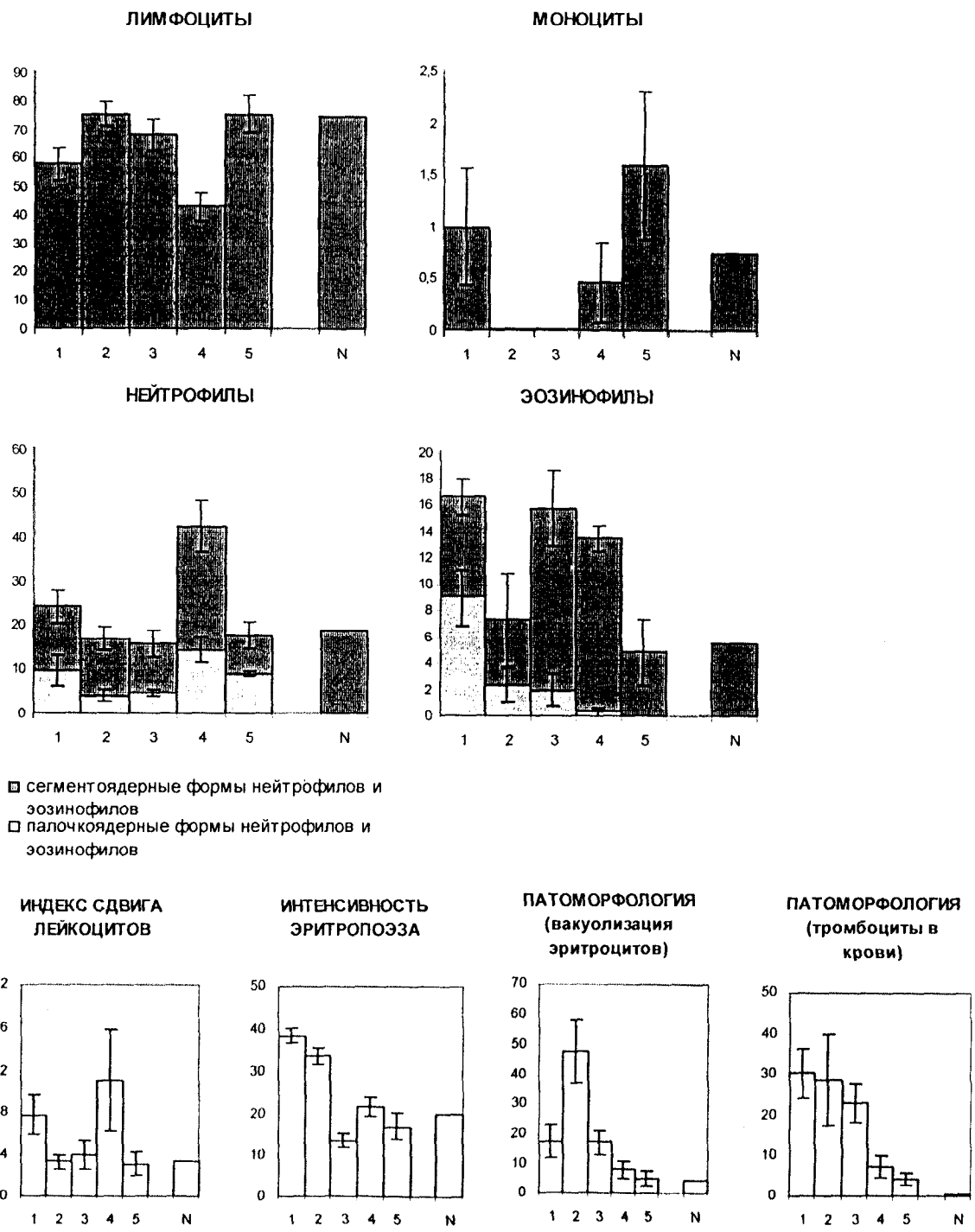
Показатели/ варианты	Интенсивн. эритропоз а	Индекс сдвига лейкоц.	Лейкоцитарная формула						Пато- морф. тромбо- цитов (ацидоз вакуоли- зация)	
			Лимфо- циты	Моно- циты	Нейтрофилы		Эозиноф.			
					П/я	С/я	П/я	С/я		
Контроль	1	38,6	0,69	58,2	1,0	9,8	14,4	16,6	-	7
Т4, 38 ст.	2	33,8	0,32	75,7	0	4	13	7,3	-	48
Т3, 38 ст.	3	13,6	0,45	68,5	0	4,7	11	15,7	-	21
Т3, 44 ст.	4	21,9	1,28	43,3	0,5	14,5	2,8	13	-	8,3
Т4, 44 ст.	5	17,0	0,3	75,5	1,6	9	8,8	4,8	-	4,7
Норма*		8 -50	0,3-0,4	72-77	0,5-1	Общее кол'во 14 -25	Общее кол'во 2-9		< 10	

## Формула изобретения

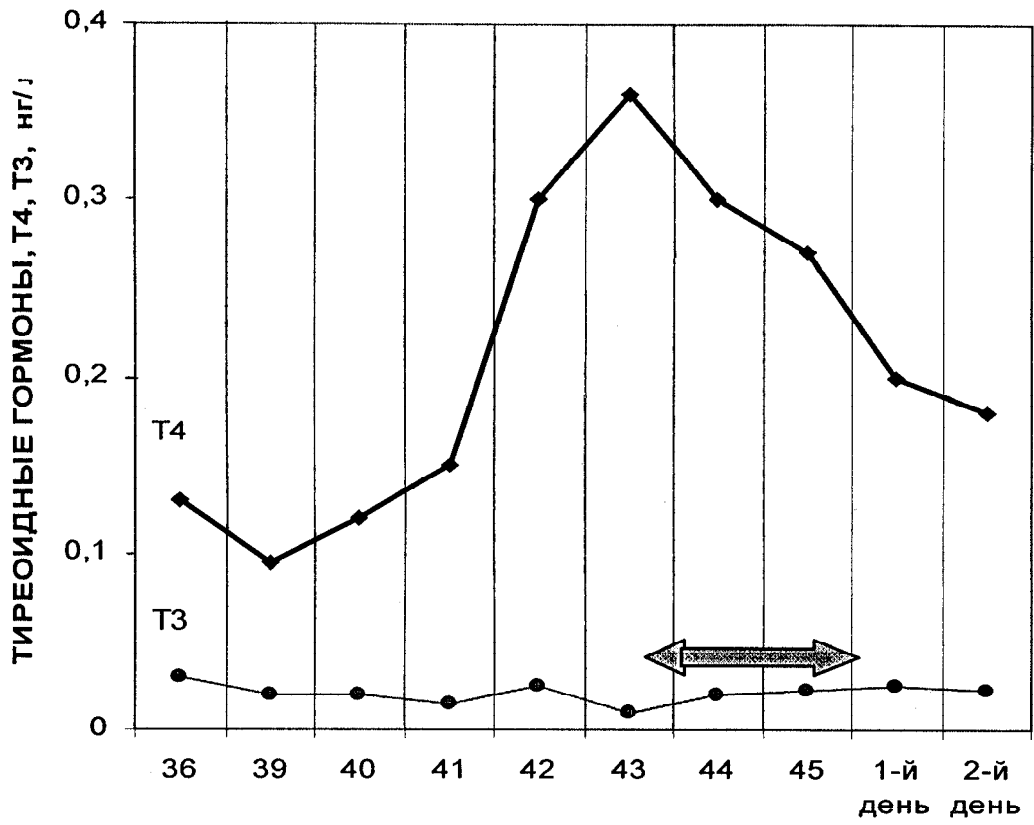
Способ подращивания личинок осетровых рыб, включающий гормональную их обработку после выклева путем погружения на 1 ч в раствор с тиреоидным гормоном и кортизолом (последний в концентрации 0,1 мг/л), отличающийся тем, что в качестве тиреоидного гормона используют тироксин в концентрации 1,5 мг/л в сочетании с кортизолом, а гормональную обработку проводят на 44-й стадии развития личинок, предшествующей выбросу меланиновой пробки и переходу на активное питание.



ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА



Фиг.2



СТАДИИ РАЗВИТИЯ

Фиг.3