



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: **2004134306/12, 24.11.2004**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
24.11.2004(45) Опубликовано: **10.05.2006 Бюл. № 13**(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: **RU 2223643 C2, 20.02.2004. RU 2073971
C1, 27.02.1997. RU 2115308 C1, 20.07.1998.
RU 2062571 C1, 27.06.1996.**Адрес для переписки:
**400002, г. Волгоград, ул. Тимирязева, 9, ГНУ
ВНИИОЗ**

(72) Автор(ы):

**Мелихов Виктор Васильевич (RU),
Дронова Тамара Николаевна (RU),
Московец Мария Васильевна (RU),
Каренгина Тамара Васильевна (RU),
Яковлев Сергей Валентинович (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский
институт орошаемого земледелия (RU)**

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

(57) Реферат:

Изобретение относится к рыбоводству и может быть использовано на предприятиях по разведению и воспроизводству рыб. Способ включает оплодотворение икры, инкубацию до получения эмбрионов и личинок и обработку их биологически активным веществом. Обработку личинок проводят в момент перехода на внешнее питание. Перед оплодотворением в сперму вносят водный раствор хлористого калия концентрацией

0,30-0,45%, перемешивают и после выдержки в течение 3-5 мин направляют на оплодотворение икры. В качестве биологически активного вещества используют биологически активный комплекс на основе зеленой водоросли *Chlorella Vulgaris*, а обработку эмбрионов проводят на стадии 2^x бластомеров в течение 50-60 мин. Повышается эффективность оплодотворения, выживаемость эмбрионов и личинок рыб. 1 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2004134306/12, 24.11.2004**(24) Effective date for property rights: **24.11.2004**(45) Date of publication: **10.05.2006 Bull. 13**

Mail address:

**400002, g.Volgograd, ul. Timirjazeva, 9, GNU
VNII OZ**

(72) Inventor(s):

**Melikhov Viktor Vasil'evich (RU),
Dronova Tamara Nikolaevna (RU),
Moskovets Marija Vasil'evna (RU),
Karengina Tamara Vasil'evna (RU),
Jakovlev Sergej Valentinovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Gosudarstvennoe nauchnoe uchrezhdenie
Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij
institut oroshaemogo zemledelija (RU)**(54) **METHOD FOR INCREASING VITALITY OF SPAWN, LARVAE AND YOUNG FISH**

(57) Abstract:

FIELD: fishery, in particular, method which may be used in fish rearing and reproduction enterprises.

SUBSTANCE: method involves impregnation of spawn, incubation for producing of embryos and larvae and treating thereof with biologically active substances. Treatment of larvae is carried out upon transition to outer feeding. Before impregnation, aqueous solution of potassium

chloride with concentration of 0.30-0.45% is introduced into sperm, which is mixed and after holding for 3-5 min directed for spawn impregnation. Biologically active complex based on green algae *Chlorella Vulgaris* is utilized as biologically active substance. Embryos are treated at 2-blastomere stage for 50-60 min.

EFFECT: increased efficiency in impregnation, increased survival rate of embryos and fish larvae.
1 tbl, 1 ex

Изобретение относится к рыбоводству и может быть использовано на предприятиях по разведению и воспроизводству рыб.

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.

Известен способ стимуляции икры промысловых рыб, заключающийся в инкубации оплодотворенной икры в воде с биологически активными соединениями:

смесь β -каротина, α -токоферола, убихинона Q₁₀, пирогаллола и аскорбиновой кислоты [1].

Используемые компоненты смеси: β -каротин, α -токоферол, убихинон Q₁₀, пирогаллол и аскорбиновая кислота являются антиоксидантами, которые обладают свойством предотвращать развитие в липидах икры и эмбрионов свободно радикальных реакций, приводящих к накоплению плазматических ядов (липидных перекисей и продуктов их распада). Например, у вьюновых и осетровых рыб в период эмбрионального развития при недостаточном запасе в яйцеклетке биоантиоксидантов возникает и развивается свободно-радикальная патология, для которой характерно несвойственное нормальным физиологическим процессам повышение концентрации продуктов свободно-радикальных реакций. Эти продукты обладают активностью плазматических ядов, в повышенных концентрациях нарушают активную и пассивную проницаемость клеточных мембран и оболочек икры, угнетают энергетический и пластический обмен в клетках эмбриональных тканей, индуцируют уродства и вызывают гибель эмбрионов. При обогащении воды антиоксидантами и синергистами антиоксидантного действия икра сорбирует эти вещества и т.о. оптимизирует(ся) эмбриогенез.

Недостатком способа является использование сложного состава из дорогостоящих компонентов, что снижает его экономичность. При этом действие данного способа ограничивается только эмбриональным и личиночным периодами жизни рыб, так как он регулирует обменные процессы, не затрагивая генный материал.

Известен способ стимуляции икры рыб, предусматривающий инкубацию оплодотворенной икры рыб до начала гастрюляции в биологически активном веществе - фосфорнокислом калии [2].

Этот способ также позволяет повысить жизнеспособность рыб только на ранних стадиях развития. Кроме того, использование данного способа затруднено в промышленных масштабах в связи со сложностью поддержания нужной концентрации биологически активных веществ в течение длительного периода в условиях заводского воспроизводства.

Известен способ стимуляции икры рыб, предусматривающий однократную обработку половых продуктов пара-аминобензойной кислотой [3].

Согласно способу пара-аминобензойной кислотой обрабатывают икру на стадии двух бластомеров до выклева.

Способ способствует активизации жизненно важных процессов, протекающих в момент воздействия и непосредственно после него, но не способствует повышению жизнеспособности и продуктивности рыб в течение первого года жизни рыб.

Известен способ искусственного оплодотворения икры рыб, согласно которому сперму отцеживают непосредственно в емкость с икрой, перемешивают, а затем приливают воду [4].

При осуществлении способа невозможно управлять качеством потомства на стадии оплодотворения, что снижает их рыбоводный эффект.

Известен способ искусственного оплодотворения икры рыб, включающий смешивание спермы с разбавителем и обработку икры полученной смесью [5]. В качестве разбавителя используют раствор хлористого натрия, который активизирует сперму.

При оплодотворении по известному способу участвуют как жизнестойкие спермии, которые дают начало жизнеспособному потомству, так и нежизнестойкие, снижающие эффективность оплодотворения и рыбоводного использования икры.

Вследствие этого в осетроводстве и лососеводстве нередко имеют место большие

производственные потери, выражающиеся в низком проценте оплодотворения икры, большом количестве эмбриональных аномалий, массовых отходах при выклеве, низкой жизнестойкости личинок и молоди.

Известен способ повышения жизнестойкости икры, личинок и молоди рыб путем обработки пробиотическим препаратом "Субтилис" [6].

Использование способа обеспечивает выживаемость эмбрионов 77%, личинок - 75%.

Технический результат - разработка способа, обеспечивающего повышение эффективности оплодотворения, выживаемости эмбрионов и личинок.

Технический результат достигается тем, что в известном способе, предусматривающем оплодотворение икры, ее инкубирование до получения эмбрионов и личинок и обработку их биологически активным веществом, причем обработку личинок проводят в момент перехода на внешнее питание, перед оплодотворением в сперму вносят равный объем водного раствора хлористого калия концентрацией 0,30-0,45%, перемешивают и после выдержки в течение 3-5 мин направляют на оплодотворение икры, в качестве биологически активного вещества используют биологически активный комплекс на основе зеленой водоросли *Chlorella Vulgaris*, а обработку эмбрионов проводят на стадии 2^x бластомеров в течение 50-60 мин.

Предлагаемая обработка спермы перед оплодотворением позволяет избирательно инактивировать спермии и дает возможность использовать только наиболее жизнестойкую сперму с высокими рыбоводными качествами.

Теоретической предпосылкой для такого рода инактивации является известная зависимость подвижности спермиев от величины электрического потенциала на их поверхностной мембране. Чем выше мембранный потенциал, тем больше скорость движения спермиев. По своей природе этот потенциал обусловлен высоким содержанием ионов калия в спермиях по сравнению с его содержанием в окружающей среде. При снижении потенциала до определенного уровня спермии утрачивают свою подвижность.

При концентрации хлористого калия в смеси со спермой 0,15-0,225% практически все нежизнестойкие спермии рыб теряют свою подвижность и поэтому не могут участвовать в оплодотворении икры. Напротив, наиболее жизнестойкие спермии, обладающие высоким исходным значением мембранного потенциала, в этих условиях еще сохраняют свою подвижность и оплодотворяющую способность.

Инактивация нежизнестойких спермиев резко сокращает отходы при инкубации и выклеве, а также существенно увеличивает средний вес особей за счет преобладания в потомстве крупных экземпляров.

Способ осуществляют следующим образом

В сперму от заводских производителей вносят равный объем водного раствора хлористого калия концентрацией, 0,30-0,45%, при этом содержание хлористого калия в смеси со спермой составляет 0,15-0,225%. Полученную смесь перемешивают, выдерживают в течение 3-5 мин и направляют в емкость с икрой.

После оплодотворения икру промывают и помещают в инкубационные аппараты с сетчатым дном. На стадии двух бластомеров икру опускают в биологически активный комплекс на основе зеленой водоросли *Chlorella Vulgaris* и выдерживают в нем в течение 50-60 мин. По истечении указанного времени икру направляют для продолжения инкубации. После вылупления предличинок их рассаживают для подращивания, а при переходе на внешнее питание личинок обрабатывают биологически активным комплексом на основе зеленой водоросли *Chlorella Vulgaris* в течение 20-30 мин.

Биологически активный комплекс на основе *Chlorella Vulgaris* получали следующим образом.

Суспензию *Chlorella Vulgaris* концентрацией 50-60 млн клеток/мл разделяли на жидкую фракцию и биомассу водорослей. Последнюю двукратно замораживали. Сначала при температуре минус 13 - минус 15°С в течение 40-60 мин, повторно - при температуре минус 4°С в течение 5 часов. После повторного размораживания отделяли клеточный сок и соединяли с жидкой фракцией. Для обработки икры и личинок биологически активный

комплекс разводили водой в соотношении 1:1.

Пример

В свежееотцеженную сперму карпа вносят равный объем водного раствора хлористого калия концентрацией 0,30-0,45%, при этом содержание хлористого калия в смеси со спермой составляет 0,15-0,225%. Смесь перемешивают и выдерживают в прохладном, защищенном от яркого света месте. Контрольный образец спермы вдвое разбавляют водой. Контакт икры со спермой продолжается 3-5 мин, после чего икру промывают большим количеством воды и помещают в инкубационные аппараты с сетчатым дном.

На стадии 2-х бластомеров икру опускают в биологически активный комплекс на основе зеленой водоросли *Chlorella Vulgaris* и выдерживают в нем в течение 50-60 мин.

Затем икру направляют для продолжения инкубации до вылупления личинок. Последних в момент перехода на внешнее питание обрабатывают биологически активным комплексом на основе зеленой водоросли *Chlorella Vulgaris* в течение 20-30 мин.

В контроле инкубацию икры проводили в аналогичных условиях без использования биологически активного комплекса.

Применение предлагаемого способа позволило повысить выход посадочного материала, выживаемость личинок, мальков и сеголеток и их продуктивность за счет преобладания в потомстве крупных экземпляров.

Вариант опыта	Оплодотворение икры, %	Выживаемость, %			Средний вес мальков в % к контролю
		личинок от икры	мальков от личинок	сеголеток от мальков	
Опыт	99,8	99,2	99,0	98,8	127
Контроль	79,6	72,3	69,0	55,2	100

Использование водного раствора хлористого калия концентрацией менее 0,30% сохраняет подвижность нежизнестойких спермиев, что приводит к появлению эмбриональных аномалий и снижению выживаемости личинок, мальков и сеголеток.

Использование концентрации хлористого калия более 0,45% снижает подвижность, в том числе и жизнестойких спермиев, что приводит к снижению процента оплодотворения икры.

Обработка икры (эмбрионов) непосредственно после оплодотворения и на стадии 4-8 бластомеров снижает результаты эмбрионального развития (продолжительность эмбрионального развития до 13%).

Продолжительность обработки икры в течение 50-60 мин биологически активным комплексом обусловлена тем, что процесс обработки совмещается с обесклеиванием икры.

Известно, что в период обесклеивания происходит набухание икры, которое связано с интенсивным всасыванием водных растворов и длится около 60 мин, с прекращением набухания, проникновение раствора биологически активных веществ к зародышу сквозь оболочку икры затрудняется. Чувствительность зародышей к воздействию генетических и физиологических факторов по мере развития снижается, поэтому воздействие биологически активными веществами в период образования зиготы является наиболее эффективным.

Источники информации

1. SU 78905 кл. А 01 К 61/00, 1978.
2. SU 867874, кл. А 01 К 61/00, 1979.
3. SU 107605, кл. А 01 К 61/00, 1982.
4. Черфас Б.И. Рыбоводство в естественных водоемах. М., 1956, с.116.
5. Макеева А.П., Белова Н.В. Продуцирование и качество спермы при искусственном разведении растительноядных рыб. - "Рыбное хозяйство, 1975, №7, с.17.
6. RU 2223643, кл. А 01 К 61/00, 2003 - прототип.

Формула изобретения

Способ повышения жизнестойкости икры, личинок и молоди рыб, предусматривающий оплодотворение икры, инкубацию до получения эмбрионов и личинок и обработку их

биологически активным веществом, причем обработку личинок проводят в момент перехода на внешнее питание, отличающийся тем, что перед оплодотворением в сперму вносят водный раствор хлористого калия концентрацией 0,30-0,45%, перемешивают и после выдержки в течение 3-5 мин направляют на оплодотворение икры, в качестве биологически активного вещества используют биологически активный комплекс на основе 5 зеленой водоросли *Chlorella Vulgaris*, а обработку эмбрионов проводят на стадии 2-х бластомеров в течение 50-60 мин.

10

15

20

25

30

35

40

45

50