



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2008130542/12, 23.07.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
23.07.2008

(45) Опубликовано: 27.12.2009 Бюл. № 36

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2185057 C2, 20.07.2002. RU 2006145686
A, 27.06.2008. SU 1762834 A1, 23.09.1992. RU
2203541 C1, 10.05.2003.

Адрес для переписки:

344002, г.Ростов-на-Дону, ул. Береговая, 21/2,
ФГУП "АзНИИРХ", зав. ОНТИ и ИС, М.А.
Артемовой

(72) Автор(ы):

Головки Галина Викторовна (RU),
Зипельт Лариса Ивановна (RU),
Карпенко Галина Игнатьевна (RU),
Чистяков Владимир Анатольевич (RU),
Сазыкина Марина Александровна (RU),
Коленко Марина Александровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ФГУП "Азовский научно-исследовательский
институт рыбного хозяйства" (RU)

(54) СПОСОБ ПОДРАЩИВАНИЯ МОЛОДИ АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОЙ ШЕМАИ В ПРУДАХ

(57) Реферат:

Способ включает осеннюю заготовку производителей, выдерживание их в зимовалах до наступления нерестовых температур, гормональное стимулирование гипофизом сазана или леща в дозах 6-7 мг/кг, инкубацию икры, выдерживание эмбрионов в рыбоводных емкостях до перехода на экзогенное питание. В последующем осуществляют пересадку особей в пруды с подготовленной естественной кормовой базой. Кормовую базу готовят путем внесения азотно-фосфорно-калийных удобрений в соотношении 5:2:1 соответственно. Минеральные удобрения вносят по сухому ложу. Пересадку личинок осуществляют в 2 этапа с интервалом 7-10 дней. Плотность посадки составляет 1-3 млн. шт./га. Перед

посадкой личинок проводят предварительное залитие и спуск прудов. В процессе подращивания дополнительно вносят навоз по прибрежной зоне вместе с культурой *Daphnia magna* и *Ceriodaphnia* sp. и зеленые удобрения из скошенной и подвяленной растительности. При переходе шемаи на стадию малька в искусственный корм с содержанием белка не менее 20% вводят пробиотический препарат на основе *Bacillus subtilis* В-1895 в количестве 0,05-0,15% от массы корма. Такая технология позволяет повысить эффективность подращивания азово-черноморской шемаи и вывести из состава микрофлоры особи патогенные микроорганизмы, а также повысить выживаемость и рыбопродуктивность. 1 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2008130542/12, 23.07.2008**(24) Effective date for property rights:
23.07.2008(45) Date of publication: **27.12.2009 Bull. 36**

Mail address:

**344002, g.Rostov-na-Donu, ul. Beregovaja, 21/2,
FGUP "AzNIIRKh", zav. ONTI i IS, M.A.
Artemovoj**

(72) Inventor(s):

**Golovko Galina Viktorovna (RU),
Zipel't Larisa Ivanovna (RU),
Karpenko Galina Ignat'evna (RU),
Chistjakov Vladimir Anatol'evich (RU),
Sazykina Marina Aleksandrovna (RU),
Kolenko Marina Aleksandrovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**FGUP "Azovskij nauchno-issledovatel'skij
institut rybnogo khozjajstva" (RU)**

(54) **METHOD FOR GROWTH OF YOUNG FISH OF AZOV-CHERNOMORSKAYA ROYAL FISH IN PONDS**

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: method includes autumn preparation of breeders, their maintenance in hibernating ponds till spawning temperatures, hormonal stimulation of carp or bream by hypophysis in doses of 6-7 mg/kg, incubation of roe, maintenance of embryos in piscicultural reservoirs before transition to exogenous nutrition. Then specimens are transferred to ponds with prepared natural food supply. Food supply is prepared by introduction of nitrogen-phosphor-potassium fertilisers in the ratio of 5:2:1 accordingly. Mineral fertilisers are introduced into dry bed. Transfer of worms is done in two stages with interval of 7-10 days. Density of placement makes 1-3

mln.pcs./ha. Prior to placement of worms, ponds are previously filled and drained. In process of growth additionally manure is introduced in coastal area together with culture *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia* sp. and green fertilisers from mowed and dried vegetation. When royal fish changes to baby fishes stage, and probiotic preparation is added to artificial fodder with content of protein of at least 20% on the basis of *Bacillus subtilis* B-1895 in amount of 0.05-0.15% from fodder mass.

EFFECT: such technology makes it possible to increase efficiency of Azov-chernomoskaya royal fish and to exclude pathogenic microorganism from microflora composition, and also to increase survival rate and fish capacity.

4 ex, 1 tbl

Изобретение относится к рыбоводству и может быть использовано при искусственном разведении шемаи, в частности при подращивании молоди в монокультуре в прудах до ее выпуска в реку.

Запасы шемаи в Азовском и Черном морях находятся в прямой зависимости от условий размножения в реках и от объема искусственного размножения. Сейчас азово-черноморскую шемаю относят к исчезающим видам, она занесена в Красную книгу.

Многие звенья технологического процесса воспроизводства шемаи заводским методом уже разработаны. Однако использование высоких плотностей посадки, экономящих прудовые фонды и материальные средства рыбоводных хозяйств, находящихся в жестких экономических условиях, приводит к снижению рыбопродуктивности и качества выпускаемой молоди.

Известный «Способ разведения и выращивания азово-черноморской шемаи» [1] является наиболее близким по технической сущности и достигаемому эффекту. Способ включает заготовку производителей осенью, выдерживание их в зимовалах до наступления нерестовых температур, гормональное стимулирование гипофизом сазана или леща в дозах 6-7 мг/кг, инкубацию икры, выдерживание эмбрионов в рыбоводных емкостях до перехода на экзогенное питание, последующую пересадку в пруды с естественной кормовой базой, подготовленной путем внесения азотно-фосфорно-калийных удобрений в соотношении 5:2:1 соответственно и органических в виде навоза, с плотностью посадки 1-3 млн. шт./га, причем пересадку в пруды осуществляют в 2 этапа с интервалом в 7-10 дней, а выращивание личинок осуществляют в моно- или поликультуре с рыбцом при соотношении рыбец: шемая, составляющем 1,5:1,0.

Недостатками данного способа являются незащищенность получаемой молоди от заболеваний из-за обсемененности поверхностных и внутренних тканей, присутствия патогенных для человека микроорганизмов, что снижает выход жизнестойкой молоди, а также небогатая естественная кормовая база.

Целью настоящего изобретения является повышение эффективности подращивания азово-черноморской шемаи, выведение из состава ее микрофлоры патогенных микроорганизмов, повышение выживаемости и рыбопродуктивности.

Эта цель достигается тем, что заготовленных осенью производителей выдерживают в зимовалах до наступления нерестовых температур, стимулируют при наступлении нерестовых температур гипофизом сазана или леща в дозах 6-7 мг/кг, икру инкубируют, эмбрионов выдерживают в рыбоводных емкостях до перехода на экзогенное питание с последующей пересадкой в пруды с подготовленной естественной кормовой базой. Перед посадкой личинок проводят предварительное залитие и спуск прудов, по сухому ложу вносят минеральные удобрения - в виде азотно-фосфорно-калийных в соотношении 5:2:1 соответственно и органические в виде навоза.

Личинок пересаживают в пруды в 2 этапа с интервалом в 7-10 дней и с плотностью посадки 1,5 млн. шт./га, во время подращивания дополнительно вносят навоз с культурой *Daphnia magna* и *Ceriodaphnia*, а также зеленые удобрения из скошенной и подвяленной растительности, а на стадии малька в искусственный комбикорм с содержанием белка не менее 20% вводят пробиотический препарат на основе *Bacillus subtilis* В-1895 в количестве 0,5-0,15% от массы корма. Содержание жизнеспособных пробиотических микроорганизмов в препарате составляет 1×10^{10} - 5×10^{11} КОЕ/г.

По сравнению с прототипом отличительные признаки изобретения являются

новыми, таким образом, изобретение соответствует критерию «новизна».

Совокупность существенных признаков заявленного технического решения не следует явным образом из изученного уровня техники, т.е. соответствует критериям «новизна» и «изобретательский уровень».

5 Способ испытан на рыбхозе ООО «им. Мирошниченко» Азовского р-на Ростовской области и по своей эффективности превосходит известный, т.о. он является промышленно применимым.

10 Достижение положительного эффекта согласно цели настоящего изобретения обеспечивается следующим:

1) Перед посадкой личинок проводят предварительное залитие и спуск прудов для уменьшения количества эстерии, стрептоцефалюса и щитня, негативно влияющих на гидробиологические процессы при подращивании шемаи, при этом по сухому ложу вносят минеральные удобрения. Внесение удобрений активизирует развитие мелких живых кормов (коловраток) - самого ценного вида питания для развивающихся личинок.

2) В середине июня по прибрежной зоне вносят навоз вместе с культурой *Daphnia magna*, а в конце июня - также с навозом - культуру *Ceriodaphnia*.

20 3) В процессе подращивания вносят зеленые удобрения из скошенной и подвяленной растительности. Мероприятия по п.п.2 и 3 способствуют увеличению естественной кормовой базы до начала использования искусственных кормов.

4) В искусственный карповый комбикорм вводят пробиотический препарат на основе *Bacillus subtilis* В-1895 в количестве 0,05-0,15% от массы корма. Содержание жизнеспособных пробиотических микроорганизмов в препарате составляет 1×10^{10} - 5×10^{11} КОЕ/г.

30 На стадии малька шемаи начинает питаться искусственным комбикормом, например, карповым. Обогащение его пробиотическим препаратом на основе *Bacillus subtilis* В-1895 способствует, во-первых, полному исчезновению из состава микрофлоры шемаи патогенных для человека штаммов микроорганизмов, принадлежащих к родам *Salmonella* и *Klebsiella* - потенциальных возбудителей инфекционных заболеваний; во-вторых, позволяет значительно повысить темп роста, коэффициент упитанности, массу выращиваемой рыбы и рыбопродуктивность прудов на 36,2% по сравнению с контролем.

35 Использование пробиотических препаратов, т.е. культур симбиотических микроорганизмов, - наиболее реальная альтернатива антибиотикам. Они способны создавать естественный защитный барьер между животными и возбудителями инфекционных заболеваний и укреплять естественный иммунитет.

40 Пробиотический препарат на основе *Bacillus subtilis* В-1895, технология получения которого разработана в ФГУП «АзНИИРХ» и заявлена им в 2007 г. (2), представляет собой коричневый порошок и отличается от других препаратов на основе *Bacillus subtilis* стойким эффектом и низкой стоимостью.

45 Технология его получения исключает использование дорогостоящих и экологически неблагоприятных процессов глубинной ферментации в жидких средах и лиофильной сушки. В 1 г препарата содержится 1×10^{10} - 5×10^{11} жизнеспособных клеток *Bacillus subtilis*. Стоимость 1 кг 60 руб.

50 Способ осуществляется следующим образом.

Производителей шемаи заготавливают осенью и выдерживают в зимовалах до наступления нерестовых температур, далее их переводят в нерестовые пруды или садки, за сутки до проведения инъекций рыб пересаживают в рыбоводные емкости,

стимулируют созревание самок путем введения гипофиза сазана или леща в дозах 6-7 мг/кг. Полученную икру оплодотворяют, обесклеивают и инкубируют в аппаратах П.С.Ющенко, личинок выдерживают в рыбоводных емкостях до перехода на экзогенное питание.

5 Перед посадкой личинок проводят провокационное залитие прудов, чтобы избавиться от эстерии, стрептоцефалюса и щитня; после спуска воды в пруды по сухому ложу вносят минеральные удобрения (азотно-фосфорно-калийные в соотношении 5:2:1 соответственно), затем в мае пруды заливают снова и через 4-5
10 дней выпускают личинок в 2 этапа с интервалом в 7-10 дней с плотностью посадки 1550 тыс. шт./га. Длительность выращивания 75 суток.

15 В середине июня вместе с повторным внесением навоза по прибрежной зоне вносят культуру *Daphnia magna*, а в конце июня также с навозом - *Ceriodaphnia* sp. В качестве зеленых удобрений в процессе подращивания вносят скошенную и подвяленную растительность.

20 До начала кормления искусственным кормом исследуют наличие бактерий, особенно патогенных, в образцах поверхностных тканей и кишечника шемаи. Помимо стандартных методов, используемых в микробиологии для идентификации бактериальных культур, используют ПЦР-диагностику. Выделение ДНК из проб, постановку ПЦР и анализ продуктов амплификации посредством электрофореза в 1,5% агарозном геле для идентификации бактерий, относящихся к роду *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Candida albicans* и *Listeria monocytogenes* проводят согласно «Временному наставлению по применению тест-системы «САЛ-КОМ» для выявления возбудителя сальмонеллеза методом ПЦР»(1998), «Инструкции по применению ПЦР-тест-системы Амплисенс *Yersinia enterocolitica*-270» (2002), «Методике проведения исследований на наличие ДНК ИППП методом ПЦР» (2002) и «Наставлению по применению тест-системы «ЛИСТЕР» для выявления и
25 идентификации *Listeria monocytogenes* методом ПЦР» (1999), соответственно.

30 Источником инфицирования сальмонеллой воды и рыбы могут являться животные и птицы, кормящиеся рыбой. Сальмонеллы могут длительно сохранять жизнеспособность во внешней среде. Так, в воде открытых водоемов они могут жить до 120 дней, в морской воде - до 217 дней. Бактерии рода сальмонелла живут в
35 организме животных, рыб и птиц. Попадая в организм человека в основном через пищу (мясо животных и птицы, яйца, рыба) или питье (сырая вода или молоко) сальмонеллы внедряются и начинают жить в стенках человеческого кишечника.

40 Из энтеробактерий, как известно, особую опасность представляют микроорганизмы родов *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter* и *Proteus*, их определение также необходимо.

45 На 25-е сутки после вселения личинок в пруды, при переходе на стадию малька их начинают кормить искусственным карповым комбикормом мелкой фракции, содержащим 23% протеина; с 42-х по 75 сутки с добавлением пробиотического препарата на основе *Bacillus subtilis* В-1895 одной размерной фракции с кормом в количестве 0,1% от массы корма, при этом корм готовят тщательным перемешиванием с сухим пробиотиком.

Примеры осуществления способа.

50 Пример 1. (Контроль). Заготовленных осенью производителей шемаи выдерживали в зимовалах до наступления нерестовых температур, после переводили в садки, за сутки до инъектирования пересаживали в рыбоводные емкости, стимулировали созревание самок путем введения гипофиза сазана в дозах 6-7 мг/кг. Полученную икру

оплодотворяли, обесклеивали и инкубировали в аппаратах П.С.Ющенко, выключившихся личинок выдерживали в рыбоводных емкостях до перехода на экзогенное питание. Пруд, предназначенный для выращивания, площадью 0,2 га спускали, вносили по сухому ложу азотно-фосфорно-калийные удобрения в соотношении 5:2:1. Через 5 дней после заливания пруда выпустили личинок с плотностью посадки 1550 тыс. шт./га в 2 этапа с интервалом 7 дней.

Перед выпуском личинок обследовали на наличие бактерий, были выявлены штаммы бактерий родов *Salmonella* и *Klebsiella*, патогенные для человека, кроме них, представители естественной микрофлоры рыб: бактерии родов *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*.

В зоопланктоне контрольного пруда было обнаружено 15 видов из различных групп гидробионтов. Наиболее многочисленными были кладоцеры, представленные 7 видами, и хирономиды - 4 вида.

В период зарыбления развивались организмы, являющиеся кормовыми для мелких личинок (коловратки, ювенильные формы копепод, мелкие формы кладоцер). Конец июня и начало июля характеризовались снижением в развитии зоопланктона (биомасса 0,54 г/м³). Затем до конца выращивания доминировали кладоцеры, биомасса которых в 3 декаде июля достигала 80,55 г/м³ за счет развития дафний и цериодафний.

Начиная с 25 суток и до конца выращивания рыбу кормили искусственным карповым комбикормом, содержащим 23% протеина, из расчета 15% от биомассы молоди в пруде. Кормление осуществлялось 2 раза в сутки.

Перед выпуском в реку мальков снова обследовали, состав микрофлоры остался неизменным.

Пример 2. Аналогично примеру 1 в опытный пруд №1 в середине июня вместе с навозом внесли культуру *Daphnia magna*, а в конце июня также с навозом - культуру *Ceriodaphnia* sp.

В качестве зеленых удобрений в начале июня внесли скошенную и подвяленную растительность.

В зоопланктоне опытного пруда отмечено 22 вида кормовых гидробионтов. В начале выращивания (3-я декада мая) наблюдались коловратки и ювенильные формы копепод и кладоцер. В 1-й декаде июня доля мелких форм зоопланктона составляла 98,1% от общей биомассы, составляющей 148,1 г/м³.

Во 2-3 декадах июня в связи с появлением лептестерии наблюдался спад в развитии зоопланктона. В конце июня наблюдались высокие значения биомассы и численности зоопланктона за счет развития кладоцер (*Daphnia* sp., *Scapholeberis mucronatas*, *Diaphanosoma brachyurum*, *Ceriodaphnia retiadata*) со средней биомассой в июле 32,1 г/м³, в августе продолжали доминировать кладоцеры, используемые шемаей в качестве корма на 65,8-88%.

Начиная с 45 суток и до конца подращивания шемаи в искусственный комбикорм вводили простым перемешиванием сухой пробиотический препарат на основе штамма *Bacillus subtilis* В-1895 в количестве 0,05% от массы корма.

Перед выпуском в реку проведенное обследование молоди показало, что основной состав микрофлоры шемаи остался неизменным, однако количество штаммов бактерий, принадлежащих к родам *Salmonella* и *Klebsiella*, значительно сократилось.

Пример 3. Аналогично примеру 2 в опытный пруд №2 с 45 суток выращивания шемаи в искусственный карповый комбикорм вводили сухой пробиотический препарат в количестве 0,1% от массы корма.

Введение пробиотического препарата способствовало исчезновению штаммов микроорганизмов, принадлежащих к родам *Salmonella* и *Klebsiella*, из микрофлоры шемаи.

Пример 4. Аналогично примеру 2 в опытный пруд №3 с 45-ых суток подращивания в искусственный карповый комбикорм вводили сухой пробиотический препарат в количестве 0,15% от массы корма.

Перед выпуском в реку штаммы бактерий, принадлежащие к родам *Salmonella* и *Klebsiella*, у шемаи не обнаружены.

Результаты подращивания шемаи в контрольном и опытных прудах представлены в таблице.

Как видно из таблицы, в контрольном пруде при относительно близких условиях подращивания, коэффициент упитанности молоди при выпуске в реку был гораздо ниже, выживаемость - близкой по значению, а рыбопродуктивность в пруде №2 на 36,2% превышала контрольный вариант.

Таким образом, внесение органических удобрений с культурой дафний, зеленых удобрений, а также введение в корм пробиотического препарата в количестве 0,1% от массы корма способствовали исчезновению из состава микрофлоры шемаи патогенных для организма человека штаммов бактерий, принадлежащих к родам *Salmonella* и *Klebsiella*, и привели к повышению ежесуточного прироста массы и конечной рыбопродуктивности.

Источники информации

1. Патент РФ №2185057, МПК А01к 61/00, 2000 г.

2. Заявка на изобретение №2007114381 с приоритетом от 16.04.07 г. «Способ получения пробиотической кормовой добавки».

Таблица				
Результаты опытов по подращиванию шемаи в прудах				
Показатели	Пруды			
	контрольный	1 вариант	2 вариант	3 вариант
Концентрация пробиотического препарата в искусственном в корме, %	0,00	0,05	0,10	0,15
Площадь пруда, м ²	2000			
Глубина, м	0,8			
Экспозиция опыта, сутки	75			
Кол-во вселенных личинок, тыс.шт.	±310	±309	±312	±308
Плотность посадки, тыс.шт./га	±1550	±1545	±1560	±1540
шт./м ³	±194	±193	±195	±193
Индивидуальная масса личинок, мг	1,8	1,8	1,8	1,8
Коэффициент упитанности по Фультону	1,2±0,06	1,3±0,11	1,3±0,10	1,3±0,09
Ежесуточный прирост молоди, мг	2,7	3,2	3,8	3,7
Выживаемость молоди, % от посадки	49,5	51,1	50,9	50,4
Рыбопродуктивность, кг/га	161,7	191,8	228,7	215,8
Средняя масса выпускаемой молоди, г	0,211	0,243	0,288	0,278

Формула изобретения

Способ подращивания азово-черноморской шемаи, включающий осеннюю заготовку производителей, выдерживание их в зимовалах до наступления нерестовых температур, гормональное стимулирование гипофизом сазана или леща в дозах 6-7 мг/кг, инкубацию икры, выдерживание эмбрионов в рыбоводных емкостях до перехода на экзогенное питание с последующей пересадкой в пруды с подготовленной естественной кормовой базой путем внесения азотно-фосфорно-калийных удобрений в соотношении 5:2:1 соответственно, пересадку личинок в 2 этапа с интервалом 7-10 дней, при этом плотность посадки составляет 1-3 млн шт./га, отличающийся тем, что перед посадкой личинок проводят предварительное залитие и спуск прудов, минеральные удобрения вносят по сухому ложу, в процессе подращивания дополнительно вносят навоз по прибрежной зоне вместе с культурой *Daphnia magna* и *Ceriodaphnia* sp. и зеленые удобрения из скошенной и подвяленной растительности, а при переходе шемаи на стадию малька в искусственный корм с содержанием белка не менее 20% вводят пробиотический препарат на основе *Bacillus subtilis* В-1895 в количестве 0,05-0,15% от массы корма.

20

25

30

35

40

45

50