



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011154302/13, 28.12.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.12.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
02.10.2011 BY A20110166

(45) Опубликовано: 27.08.2013 Бюл. № 24

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: SU 1666029 A1, 30.07.1991. SU 106998 A1,
01.01.1957. RU 2204264 C2, 20.05.2003.

Адрес для переписки:

220072, Республика Беларусь, г. Минск, ул.
Академическая, 27, Институт генетики и
цитологии Национальной академии наук
Беларуси, ОНИР, А.П. Быченко

(72) Автор(ы):

Гончарова Роза Иосифовна (BY),
Слуквин Александр Михайлович (BY),
Дубурс Гунарс Янович (LV),
Бисениекс Эйгил Арвидович (LV),
Улдрикис Янис Рихардович (LV)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное научное учреждение
"Институт генетики и цитологии
Национальной академии наук Беларуси" (BY)

**(54) СПОСОБ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА ДИЛУДИН МОЛОДИ
ДЛИННОПАЛОГО РАКА (*Astacus leptodactylus* Esch.) ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЕГО
БИОПРОДУКТИВНОСТИ**

(57) Реферат:

Способ предусматривает насыщение
дилудином живого зоопланктона, который при
филтрации пищи аккумулирует этот препарат.
Зоопланктон является доминирующим
компонентом в кормовом рационе молоди
длиннопалого рака (*Astacus leptodactylus* Esch.).
При питании молоди рака зоопланктоном,

насыщенным дилудином, обеспечивается
поступление в организм молоди рака
эффективных флюоресцирующих препаратов
класса производных дигидропиридинов.
Изобретение обеспечивает увеличение
выживаемости и продуктивности
длиннопалого рака. 5 табл., 2 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2011154302/13, 28.12.2011**

(24) Effective date for property rights:
28.12.2011

Priority:

(30) Convention priority:
02.10.2011 BY A20110166

(45) Date of publication: **27.08.2013 Bull. 24**

Mail address:

**220072, Respublika Belarus', g.Minsk, ul.
Akademicheskaja, 27, Institut genetiki i
tsitologii Natsional'noj akademii nauk Belarusi,
ONIR, A.P. Bychenko**

(72) Inventor(s):

**Goncharova Roza Iosifovna (BY),
Slukvin Aleksandr Mikhajlovich (BY),
Duburs Gunars Janovich (LV),
Bisenieks Ehjgil Arvidovich (LV),
Uldrikis Janis Rikhardovich (LV)**

(73) Proprietor(s):

**Gosudarstvennoe nauchnoe uchrezhdenie "Institut
genetiki i tsitologii Natsional'noj akademii
nauk Belarusi" (BY)**

(54) **METHOD OF ORAL ADMINISTRATION OF PREPARATION DILUDINUM TO JUVENILES OF CLAWED CRAYFISH (*Astacus leptodactylus* Esch) TO ENHANCE ITS BIO-PRODUCTIVITY**

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: method includes saturation with diludinum of live zooplankton, which accumulates this preparation during filtering the food. Zooplankton is the dominant component in the feed ration of juvenile of clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch.). When feeding juvenile of

crayfish with zooplankton saturated with diludinum, the admission into organism of juvenile of crayfish of effective fluorescent preparations of diludinum-derivatives class is provided.

EFFECT: invention provides an improvement in survival rate and productivity of clawed crayfish.

5 tbl, 2 ex

RU 2 490 886 C1

RU 2 490 886 C1

Изобретение относится к раководству, в частности к разработке ресурсосберегающих биотехнологических приемов повышения выживаемости и биопродуктивности рака.

5 Известно, что препарат дилудин (2,6-диметил-3,5 дикарбэтокси-1,4-дигидропиридин, $C_{13}H_{19}N_{O4}$) используется в качестве кормовой добавки для различных видов животных в качестве антиоксиданта и стимулятора роста, а также в качестве комплексона и антимутагена с эффективным ростостимулирующим действием [1-9]. Все вышеперечисленные свойства препарата могут быть
10 использованы при промышленном выращивании молоди раков. Учитывая низкие темпы роста и развития ракообразных в условиях естественных водоемов Беларуси, использование кормов с добавкой дилудина для выращивания раков в промышленных масштабах позволит получить большое количество молоди рака, более жизнеспособного и устойчивого к заболеваниям.

15 При выращивании раков на промышленной основе и в аквариумистике для кормления молоди раков используются как живые корма (зоопланктон, водоросли и др.), так и стартовые искусственные многокомпонентные корма [10-13]. Известен способ введения препарата дилудин в искусственные корма для гидробионтов путем
20 замешивания с различными компонентами животного и растительного происхождения с дальнейшей грануляцией корма [6]. Недостатком искусственных стартовых комбикормов для раков является их высокая стоимость, что обуславливает высокую себестоимость выращенной продукции и низкую рентабельность раководства [10-13].

25 Задачей настоящего изобретения является разработка нового биотехнологического приема повышения выживаемости и продуктивности рака за счет использования установленных ростостимулирующих свойств препарата дилудин и удобного способа его введения в корма для молоди раков. Поставленная задача достигается тем, что в
30 качестве посредника по доставке препарата в организм молоди раков предложено использовать живые пищевые организмы, а именно зоопланктон, доминирующий на 70-80% в кормовом рационе у молоди рака в раннем онтогенезе.

При разработке данного способа введения препарата в живые корма для молоди раков были использованы известные свойства препарата дилудин, в частности такие
35 как: водонерастворимость; мелкодисперсность; желтое флюоресцентное свечение в проникающем свете; способность образовывать коллоидную массу при его размешивании в воде [1].

Эффективность предложенного способа введения препарата дилудин в организм
40 молоди рака для повышения его биопродуктивности посредством доставки с помощью живого зоопланктона с аккумулярованным дилудином продемонстрирована на следующих примерах.

Пример 1. Аккумуляция дилудина дафниями.

45 Для выращивания зоопланктона, используемого в качестве живого корма для молоди рака, были оборудованы четыре замкнутых устройства с водой (в рыбоводстве они называются «дафНИЕВЫЕ ямы»). В воде этих ям был разведен до коллоидной массы препарат дилудин. Затем туда была посажена маточная культура живого зоопланктона, отловленного в выростных прудах хозяйства. При изучении
50 видового состава отловленного зоопланктона было установлено, что основная биомасса представлена прозрачным ветвистоусым рачком - дафнией (*Daphnia longispina*). Основной пищей для дафний служат бактерии, одноклеточные водоросли и органические частицы. Питаются дафнии путем отфильтровывания пищевых

объектов, создавая токи воды ритмическими движениями грудных ножек.

Световая микроскопия дафний, выполненная через 30 минут после их помещения в воду с дилудином, показала, что в кишечнике дафний находится дилудин, дающий четкую желто-зеленую флюорисцентную окраску [1].

Как показали дальнейшие исследования, дилудин не оказывал отрицательного воздействия на выживаемость, видовой состав и биомассу зоопланктона в течение месяца наблюдения. Более того, через месяц после начала эксперимента было зарегистрировано увеличение в 2,1 раза численности зоопланктона в опытных ямах по сравнению с контрольными. Это свидетельствует о том, что дилудин стимулирует рост численности и биомассы дафний при их культивировании в дафниевых ямах, то есть проявляет ростостимулирующий эффект.

Пример 2. Влияние дилудина, аккумулированного в организме дафний, на рост и развитие молоди рака

Молодь рака выращивали в 12 садках, погруженных в воду и закрытых полиэтиленовыми укрытиями.

Перед посадкой личинок рака в садки были изучены их морфометрические показатели. Личинки, посаженные в контрольные и опытные садки, не отличались по линейным и весовым показателям (таблица 1). Молодь рака выращивались в садках с разной плотностью посадки, а именно 15 экз. на 1 м² и 30 экз. на 1 м².

Для кормления опытной молоди рака при низкой плотности посадки личинок рака в садки вносили по 1 кг живого зоопланктона с отфильтрованным и аккумулированным дилудином, а при высокой плотности посадки личинок рака соответственно по 2 кг. Зоопланктон в контроле (без препарата) задавался личинкам рака в аналогичных опыту количествах. Длительность опытного скармливания личинкам рака живого зоопланктона, с поглощенным дилудином, составляла один месяц (с 01.07 по 30.07.2009 г.).

Таким образом, было проведено две серии экспериментов с трехкратным повтором по введению препарата дилудин молоди рака новым способом и изучению его влияния на биопродуктивность рака при низкой и высокой плотностях выращивания.

Каждые десять дней анализировались рост и развитие молоди рака, а также их выживаемость и частоты встречаемости морфологических отклонений.

Полный гидрохимический анализ проб воды в пруду и садках осуществлялся лабораторией хозяйства раз в декаду. Оперативный гидрохимический контроль в течение эксперимента проводили ежедневно с помощью термооксиметра «Horiba-U7» (Япония).

Таблица 1
Величины линейных и весовых показателей рака в опытных и контрольных сериях перед началом эксперимента (01.07.2009 г.)

Контрольные садки				Опытные садки			
№ садка п/п	Длина (L), (мм)	Масса (P), (г)	Морфологические аномалии (%)	№ садка п/п	Длина (L), (мм)	Масса (P) (г)	Морфологические аномалии (%)
Плотность посадки личинок 15 экз/м ²							
1	7,1±1,04	0,011±0,003	-	4	7,1±1,04	0,011±0,001	-
2	7,2±1,01	0,012±0,002	-	5	7,2±1,04	0,011±0,002	-
3	7,1±1,02	0,012±0,001	-	6	7,2±1,04	0,012±0,003	-
Плотность посадки личинок 30 экз/м ²							
7	7,1±1,03	0,011±0,001	-	10	7,1±1,05	0,011±0,001	-
8	7,1±1,04	0,011±0,003	-	11	7,3±1,04	0,013±0,002	-
9	7,2±1,04	0,011±0,003	-	12	7,2±1,05	0,012±0,003	-

Результаты полного гидрохимического анализа в пруду и садках на начало постановки и в ходе проведения экспериментов показали, что вода полностью соответствовала оптимальным параметрам для выращивания молоди раков (таблица 2) [14,15].

На протяжении всего хода эксперимента отклонений от нормы по

гидрохимическим показателям в садках не зарегистрировано.

Таблица 2

Обобщенные результаты гидрохимических исследований воды с 01.07. по 30.07.2009 г.

Наименование показателей	Ед. изм.	Реальные значения в садках	Оптимальные значения
Температура воды	град. С	19,9-23,5	22,0-25,0
Содержание кислорода	мг/л	7,8-8,1	5,5-9,5
РН		7,7-7,9	7,0-8,6
Азот аммонийный	мг/л	0,03-0,05	до 0,05
Аммиак	мг/л	0,0	до 0,01
Фосфор	мг/л	0,0	до 2,5
Щелочность	мг-экв/л	0,9-1,0	ДО 2,5
Сероводород	мг/л	0,0	0,0
Свободная углекислота	мг/л	0,0	0,0
Нитриты	мг/л	0,0	до 0,01
Нитраты	мг/л	0,0	до 0,4
Жесткость	мг-экв/л	3,6-4,6	2,0-6,0
Окисляемость	МГО2 /Л	12,0-15,0	до 15,0
Кальций	мг/л	10,0-15,5	10,0-60,0
Магний	мг/л	1,2-1,4	
Железо общее	мг/л	0,05-0,1	0,35-1,0
Прозрачность	см	50-75	не менее 75

Данные двух серий экспериментов по определению оптимальной плотности посадки личинок в садки, а также влиянию дилудина, доставляемого в организм молоди рака перорально посредством живого зоопланктона, на рост и развитие личинок представлены в таблицах 3-5.

Таблица 3

Влияние перорально введенного дилудина на рост и развитие молоди рака через десять дней после начала эксперимента

Контрольные садки						Опытные садки					
№ садка п/п	Кол-во (экз.)	Длина (L), (мм)	Масса (P), (г)	Морфологические аномалии (%)	Выживаемость (%)	№ садка п/п	Кол-во (экз.)	Длина (L), (мм)	Масса (P), (г)	Морфологические аномалии (%)	Выживаемость (%)
Плотность посадки личинок 15 экз/м ²											
1,2,3	45	13,6±1,7	0,032±0,005	-	100,0	4,5,6	45	13,9±1,6*	0,034±0,005	-	100,0
Плотность посадки личинок 30 экз/м ²											
7,8,9	84	9,4±1,6	0,016±0,005	4,9±1,0	90,0±2,0	10,11,12	85	9,6±1,3	0,017±0,006	1,2±1,0#	94,4±2,0#

* различия опыта с контролем при плотности посадки раков 15 экз/м² достоверны при P<0,5
различия опыта с контролем при плотности посадки раков 30 экз/м² достоверны при P<0,5

Таблица 4

Влияние перорально введенного дилудина на рост и развитие молоди рака через двадцать дней после начала эксперимента

Контрольные садки						Опытные садки					
№ садка п/п	Кол-во (экз.)	Длина (L), (мм)	Масса (P), (г)	Морфологические аномалии (%)	Выживаемость (%)	№ садка п/п	Кол-во (экз.)	Длина (L), (мм)	Масса (P), (г)	Морфологические аномалии (%)	Выживаемость (%)
Плотность посадки личинок 15 экз/м ²											
1,2,3	45	16,4±1,7	16,4±1,7	6,7±1,3	100,0	4,5,6	45	22,9±2,1*	0,27±0,02*	1,0±1,0*	100,0
Плотность посадки личинок 30 экз/м ²											
7,8,9	69	13,2±1,1	13,2±1,1	8,7±1,1	76,3±4,0	10,11,12	80	15,9±1,1#	0,13±0,01#	6,3±1,2#	88,9±2,0#

* различия опыта и контроля при плотности посадки личинок 15 экз/м² достоверны при P<0,5
различия опыта и контроля при плотности посадки личинок 30 экз/м² достоверны при P<0,5

Таблица 5

Влияние перорально введенного дилудина на рост и развитие молоди рака через тридцать дней после начала эксперимента

Контрольные садки						Опытные садки					
№ садка п/п	Кол-во (экз.)	Длина (L), (мм)	Масса (P), (г)	Морфологические аномалии (%)	Выживаемость (%)	№ садка п/п	Кол-во (экз.)	Длина (L), (мм)	Масса (P), (г)	Морфологические аномалии (%)	Выживаемость (%)
Плотность посадки личинок 15 экз/м ²											
1,2,3	43	22,7±2,5	0,33±0,05	4,4±1,1	95,6±1,4	4,5,6	45	31,7±2,4*	0,53±0,09*	1,0±1,0*	100,0*
Плотность посадки раков 30 экз/м ²											
7,8,9	59	16,3±1,2	0,19±0,01	8,5±1,4	65,6±3,0	10,11,12	75	19,6±1,0#	0,24±0,01#	2,5±1,2#	83,3±2,0#

* различия опыта и контроля при плотности посадки раков 15 экз/м² достоверны при P<0,5
различия опыта и контроля при плотности посадки раков 30 экз/м² достоверны при P<0,5

Полученные данные свидетельствуют о том, что плотность посадки 15 экз. молоди раков на 1 м² садков является наиболее благоприятной для выращивания сеголетка рака и не оказывает отрицательного воздействия на их продуктивность и выживаемость. Молодь рака при такой плотности посадки хорошо развивается и дает хорошие приросты.

В результате месячного эксперимента с дилудином у представителей ракообразных

был впервые зарегистрирован ростостимулирующий эффект препарата. Так, при оптимальной плотности посадки личинок в садки величины прироста линейных и весовых показателей у молоди рака к концу эксперимента возросли по сравнению с контролем на 39,6% и на 60,6%, а при высоких плотностях посадки на 20,2% и 26,3% соответственно. Выживаемость молоди раков, получавших дилудин перорально посредством живого зоопланктона, была существенно выше (4,4-17,7%), чем в контрольных вариантах, как при низких, так и при высоких плотностях выращивания личинок. Установлено, что дилудин также способствовал уменьшению частот морфологических отклонений от 4,4 до 6,0% по сравнению с контролем.

Таким образом, установлено, что способ перорального введения дилудина молоди рака (*Astacus leptodactylus* Esch.), основанный на опосредованном механизме доставки препарата в организм посредством живого зоопланктона способствует повышению биопродуктивности молоди рака за счет увеличения роста и выживаемости, а также снижения частот морфологических отклонений.

Источники информации

1. Вальдман А.Р., Дубур Г.Я., Спруж Я.Я. Дилудин-новый антиоксидант-стабилизатор витаминов и стимулятор роста и продуктивности сельскохозяйственных животных // Известия АН Латв. ССР. - 1977. - №.9. - С.43-61.

2. Гончарова Р.И. Теоретические и практические аспекты антимуtagenеза // Молекулярная и прикладная генетика. Т1. Минск, 2005. - С 21-25.

3. Т.Д.Кужир. Антимуtagenы и химический мутагенез в системах высших эукариот. Минск: Техналопя, 1999. - 267 с.

4. Наставление по применению дилудина в качестве стимулятора продуктивности сельскохозяйственных животных /МСХ СССР. Главное управление по производству комбикормов и кормовых добавок. Утверждено 16.04.1984. - №109-10. - М., 1984.- 2 с.

5. Дилудин - стимулятор роста молоди лососевых /Маликова Е.М., Глаголева Т.П., Бодрова Т.И., Иозепсон У.П., Дубурс Г.Я., Улдрикис Я.Р. // Рыбн. хоз-во. - М., 1977. - №5. - С.24-25.

6. Комбикорма для рыб: производство и методы кормления / Гамыгин Е.А., Лысенко В.Я., Склярков В.Я., Турецкий В.И. / М.: Агропромиздат, 1989. - 168 с.

7. Goncharova R, Slukvin A., Duburs G., Uldriks J., Bisenieks E. Promising antimutagen for improving reproductive indices of stripped fishes and the quality of their progeny. - European Aquaculture Society, Special Publication. - 2002. - №31, P.63-66.

8. Патент ВУ №5016.

9. Каталог научно-технической продукции «Новые вещества и технологии для сельского хозяйства», Минск, 2007. - 24 с.

10. BIOMAX - корма для раков [Электронный ресурс] - Режим доступа: biomax.ru.narod.ru/food_cray.html - Дата доступа: 10.01.2011.

11. Корм для креветок и раков Tetra Crusta Menu 100 мл [Электронный ресурс] - Режим доступа: www.aquatrace.ru/product/tet-171794/ - Дата доступа: 10.01.2011.

12. TetraCrusta Menu 100 мл - специальный корм для раков и креветок - [Электронный ресурс] - Режим доступа: http://www.aquariumshop.ru/index.php?main_page=product_info&products_id=1616.

13. Корм Sera для раков Crabs Natural 100 - [Электронный ресурс]. - Режим доступа: www.aqua-shop.ru/product_info.php/.../17796 - Дата доступа: 10.01.2011.

14. Колмыков Е.В. Инструкция по разведению раков. - Астрахань, 2004. - 30 с.

15. Раколовство и раководство на водоемах Европейской части России.

(Справочник) под редакцией О.И. Мицкевич. Санкт-Петербург, 2006.-207 с.

Формула изобретения

Способ перорального введения препарата дилудин молоди длиннопалого рака (*Astacus leptodactylus* Esch.) для повышения его биопродуктивности, отличающийся тем, что для поступления в организм молоди рака эффективных флюорисцирующих препаратов класса производных дигидропиридинов предлагается опосредованный механизм доставки их посредством живого зоопланктона, который при фильтрации пищи аккумулирует препарат и является доминирующим компонентом в кормовом рационе молоди рака.

15

20

25

30

35

40

45

50