РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



2 564 840⁽¹³⁾ C2

(51) MIIK A01K 61/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013153312/13, 29.11.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента: 29.11.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 29.11.2013

(43) Дата публикации заявки: 10.06.2015 Бюл. № 16

(45) Опубликовано: 10.10.2015 Бюл. № 28

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU2223643C2, 20.02.2004. SU1274652A1, 07.12.1986. RU2421987C1, 27.06.2011

Адрес для переписки:

344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Береговая, 21В, ФГБНУ "АзНИИРХ", Начальнику Центра НТИ и ИС Войкиной А.В.

(72) Автор(ы):

Пономарева Елена Николаевна (RU), Мирзоян Арсен Вячеславович (RU), Степанова Анастасия Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Азовский научноисследовательский институт рыбного хозяйства" (RU),

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Астраханский государственный технический университет" (RU)

4

 ∞

4

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИЧИНОК И МАЛЬКОВ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

(57) Реферат:

Изобретение относится к индустриальному рыбоводству и может быть использовано для получения жизнестойкой молоди рыб. Способ предусматривает обработку икры осетровых рыб водным раствором комплексного препарата Гамавит. Обработку проводят после промывки оплодотворенной икры в течение 3 минут при концентрации препарата 0,5-1,0 мг/л. Изобретение обеспечивает увеличение выклева личинок и повышение жизнеспособности мальков. 4 табл., 7 пр.

C

S

RUSSIAN FEDERATION



 $^{(19)}$ RU $^{(11)}$ 2 5

2 564 840⁽¹³⁾ **C2**

(51) Int. Cl. **A01K** 61/00 (2006.01)

FEDERAL SERVICE FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2013153312/13, 29.11.2013

(24) Effective date for property rights: 29.11.2013

Priority:

(22) Date of filing: 29.11.2013

(43) Application published: 10.06.2015 Bull. № 16

(45) Date of publication: 10.10.2015 Bull. № 28

Mail address:

344002, g. Rostov-na-Donu, ul. Beregovaja, 21V, FGBNU "AzNIIRKh", Nachal'niku Tsentra NTI i IS Vojkinoj A.V.

(72) Inventor(s):

Ponomareva Elena Nikolaevna (RU), Mirzojan Arsen Vjacheslavovich (RU), Stepanova Anastasija Nikolaevna (RU)

(73) Proprietor(s):

Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe nauchnoe uchrezhdenie "Azovskij nauchno-issledovatel'skij institut rybnogo khozjajstva" (RU),

Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovanija "Astrakhanskij gosudarstvennyj tekhnicheskij universitet" (RU)

S

ი 4

 ∞

4

(54) METHOD OF PRODUCTION OF LARVAE AND YOUNG STURGEON

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: invention relates to an industrial fishery and can be used to produce viable young fish. The method comprises treatment of sturgeon roe with an aqueous solution of a complex preparation Gamavit. The treatment is carried out after washing the fertilized

roe for 3 minutes at a concentration of the preparation of 0.5-1.0 mg/l.

EFFECT: invention provides an increase in hatching of larval fish and raising the fry viability.

4 tbl, 7 ex

7 0

2564840

=

Изобретение относится к индустриальному рыбоводству, а именно к искусственному воспроизводству ценных видов рыб, и используется для получения жизнестойкой молоди ценных видов рыб, преимущественно осетровых, с целью выпуска ее в естественные водоемы или дальнейшего товарного выращивания.

5

45

Повышение эффективности заводского разведения осетровых видов является актуальной проблемой. При этом основной задачей осетроводства является выпуск в естественные водоемы здоровой и жизнестойкой молоди. Одним из условий этого является успешная инкубация икры. В период инкубации закладываются все жизненно важные органы, развитие которых напрямую влияет на иммунную систему, рост и резистентность будущей молоди. Для улучшения качества половых продуктов применяются методы стимуляции производителей осетровых рыб на ранних стадиях онтогенеза с помощью различных БАВ и витаминов.

Например, известен способ подготовки производителей осетровых к нересту (патент РФ №2233083, МКИ А01К 61/00, 63/00) (1), в котором осуществляют витаминную стимуляцию производителей осетровых внутримышечными инъекциями препаратов С и Е на стадии подготовки к нересту в течение месяца перед гипофизарной инъекцией. В результате инъецирования витаминами происходит улучшение физиологического состояния производителей в период нереста.

Однако при искусственном воспроизводстве в момент инкубации на оплодотворенную икру влияет ряд неблагоприятных факторов (некачественный гидрохимический режим, плотности закладки икры, некачественные половые продукты, лечебная обработка органическими красителями). Улучшить результаты инкубации может помочь дополнительная обработка оплодотворенной икры биологически активными веществами (витаминами) и иммуностимуляторами, которые повышают жизнестойкость и резистентность потомства к действию токсикантов как органической, так и неорганической природы.

Известен способ повышения жизнестойкости рыб путем обработки икры стимулирующим веществом в бедной среде (авт. свид. СССР №1243667, МКИ А01К 61/00) (2), в котором икру обрабатывают раствором витамина В12 в количестве 0,4-1,0 мг/л воды в течение 2-6 часов. Однако использование этого способа затруднено в промышленных условиях, т.к. витамин В12 относится к веществам, трудно растворимым в воде.

Одним из решений повышения эффективности заводского разведения осетровых видов, кроме повышения их жизнестойкости, может быть получение молоди более крупной навески. Это позволит ей быть более устойчивой к негативным факторам окружающей среды и будет способствовать повышению ее выживаемости в естественных водоемах после выпуска. Для получения жизнестойкой молоди крупной навески необходим комплекс витаминов и иммуномодулирующие средства.

Предлагаемый способ решает задачу получения жизнестойкой молоди крупной навески.

Техническим результатом способа является увеличение выклева личинок, повышение жизнеспособности мальков, интенсифицикация их роста и развития и получение для выпуска в водоемы жизнестойкой молоди крупной навески, адаптированной к негативным факторам окружающей среды.

Указанный биотехнологический результат достигается тем, что в известном способе получения личинок и мальков осетровых рыб, в котором икру осетровых рыб обрабатывают в водном растворе стимулирующего вещества, согласно изобретению в качестве стимулирующего вещества используют комплексный препарат Гамавит,

при этом обработку проводят после промывки оплодотворенной икры при дозировках препарата 0,5-1,0 мг/л и времени выдержки в этом растворе 3 мин.

Лекарственное средство Гамавит зарегистрировано в Российской Федерации за №ПРВ -2-3.3/01313 и используется в современной ветеринарии. Гамавит является комплексным препаратом, основными действующими веществами которого являются плацента денатурированная эмульгированная (ПДЭ) и нуклеинат натрия. Данный препарат содержит комплекс биологически активных веществ, благодаря которым оптимизирует обменные процессы в организме (в частности, белковый, витаминный и минеральный), нормализует формулу крови, повышает бактерицидную активность сыворотки крови, оказывает иммуномодулирующее и общее биотонизирующее действие. Особенность этого препарата заключается в наличии не только иммуномодулирующих, но и выраженных противовоспалительных свойств. Также его уникальный состав влияет на повышение жизнестойкости потомства на ранних этапах онтогенеза.

В результате экспериментов установлено, что потомство, полученное после проведения профилактической обработки оплодотворенной икры препаратом Гамавит, отличается высокой выживаемостью, хорошим потенциалом роста и находится в лучшем физиологическом состоянии. Наилучший эффект отмечен при дозе препарата 0,5 мг/л и времени выдерживания икры в препарате 3 мин.

Совокупность отличительных признаков описываемого способа обеспечивает достижение указанного технического результата.

В результате проведенного анализа уровня техники не обнаружен аналог, характеризующийся признаками, тождественными всем существенным признакам заявленного изобретения, а определение прототипа из выявленных аналогов позволило выявить совокупность существенных по отношению к техническому результату отличительных признаков. Следовательно, заявленное изобретение соответствует условию "новизна".

При дополнительном поиске других технических решений, относящихся к способам получения личинок и молоди осетровых рыб, указанных отличительных признаков не обнаружено. Таким образом, заявленное изобретение соответствует условию "изобретательский уровень".

Способ осуществляют следующим образом.

В емкость аппарата для обесклеивания икры, содержащего воду и оплодотворенную икру, сразу после отмывки добавляют препарат Гамавит. Доза препарата составляет 0,5-1,0 мг/л. Гамавит вводится в разбавленном виде. Время обработки составляет 3 мин. В момент обработки проточность в аппарате снижают до минимума с целью создания максимальной концентрации раствора в течение всего периода обработки. После обработки оплодотворенную икру сразу же перемещают в инкубационные аппараты.

Примеры осуществления способа.

40 Исследования проводились в индустриальных хозяйствах юга России в установках замкнутого водоснабжения. Эксперимент проводился с контрольной и тремя опытными группами. Для проведения экспериментов были использованы половые продукты самок и самцов ленского осетра. Зрелая икра на IV завершенной стадии была получена методом подрезания яйцевода. Сперма была получена методом сцеживания через катетер.

45 Степень зрелости икры определялась методом расчета коэффициента поляризации. Активность спермы определяли по 5-бальной шкале Г.М. Персова. Оплодотворение проводилось полусухим способом. После отмывки в аппаратах обесклеивания оплодотворенная икра в контроле перемещалась в инкубационные аппараты, а в опытных группах предварительно обрабатывалась препаратом Гамавит. Для инкубации использовали модифицированные аппараты «Осетр» в УЗВ. Процент оплодотворения определяли на пятой стадии эмбриогенеза. Профилактическую обработку икры во время инкубации проводили один раз с использованием метиленового синего из расчета 1,0 мг/л с экспозицией 20 мин. Гидрохимические показатели воды в период инкубации представлены в таблице 1.

Таблица 1. Гидрохимические показатели воды в период инкубации

10

15

20

25

35

Показатели	Единица	Эксперим	Контроль	ПДК
	измерения	ент		
pН		7,2	7,0	7,0-8,0
Кислород растворенный	мғ/л	8	8	4,0
Окисляемость перманганатная	мгО/л	12	12	10,0
Кальций	мг/л	140	140	180
Магний	мг/л	20	20	40
Хлориды	мг/л	17	17	30
Сульфаты	мг/л	10	10	50
Фосфаты	мг/л	0,06	0,06	0,3
Азот аммиака	мг/л	0,24	0,24	0,5
Азот нитритов	мг/л	0,02	0,02	0,1
Азот нитратов	мг/л	10	10	50
Жесткость общая	мг/л	5	5	6,0-8,0
Железо общее	мг/л	0,3	0,3	1,0

В процессе экспериментов проводилось контрольное взвешивание и измерение эмбрионов, 3-дневных личинок и молоди, полученных из экспериментальной икры ленского осетра. Кормили личинок живой артемией с последующим добавлением искусственных стартовых кормов. После полного перехода на искусственный рацион кормление молоди осуществляли стартовыми кормами фирмы «Биомар». Контрольное взвешивание и измерение проводили каждые 10 дней.

Пример 1 - контроль. После отмывки в аппаратах обесклеивания оплодотворенная икра в контроле сразу перемещалась в инкубационные аппараты. Дожидались выклева личинок. Кормили личинок живой артемией с последующим добавлением искусственных стартовых кормов. После полного перехода на искусственный рацион кормление молоди осуществляли стартовыми кормами фирмы «Биомар». Контрольное взвешивание и измерение проводили каждые 10 дней. Эксперимент длился 61 дней. Результаты представлены в таблице 2.

Пример 2. После отмывки оплодотворенной икры в аппаратах обесклеивания проводили обработку ее препаратом Гамавит в течение 3 мин. Доза препарата составляла 0,2 мг/л. Гамавит вводился в разбавленном виде. В момент обработки проточность в аппаратах снижали до минимума с целью создания максимальной концентрации раствора в течение всего периода обработки. После обработки оплодотворенную икру сразу же перемещали в инкубационные аппараты «Осетр» в УЗВ. Выращивание личинок и молоди проводили аналогично примеру 1. Контрольное

взвешивание и измерение проводили каждые 10 дней. Эксперимент длился 60 дней. Результаты представлены в таблице 2.

Пример 3. Эксперимент проводили аналогично примеру 2. Дозу препарата Гамавит выбирали 0,5 мг/л. Время обработки оплодотворенной икры составила 3 мин.

Эксперимент длился 59 день. Результаты представлены в таблице 2.

10

15

20

25

30

35

Пример 4. Эксперимент проводили аналогично примеру 2. Дозу препарата Гамавит выбирали 1,0 мг/л. Время обработки оплодотворенной икры составила 3 мин. Эксперимент длился 59 день. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты эксперимента по обработке оплодотворенной икры иммуностимулирующим препаратом Гамавит

Наименование	Единиц	Опытная группа			Контро ль
показателя	a				
	измере ния	1	2	3	
Доза препарата Гамавит	мг/л	0,2	0,5	1,0	-
Время обработки	мин	3	3	3	-
Количество оплодотворенной икры	КГ	1	1	1	1
Средний вес икринки	МΓ	26,7	26	27,5	26,8
Отход за период инкубации	%	12	7	7	18
Продолжительность инкубации	сут.	8	7	7	9

Средняя масса 3-х дневной личинки	МГ	17	21	21	15
Выход личинки, перешедшей на активное питание	%	66	72	73	54
Отход молоди за период выращивания до средней массы 10 г	%	5	3	3	10
Период выращивания	сут.	60	59	59	61

Из таблицы 2 следует, что оптимальная доза обработки оплодотворенной икры препаратом Гамавит составляет 0,5-1,0 мг/л.

Пример 5. Был проведен эксперимент по проверке оптимального времени обработки оплодотворенной икры препаратом Гамавит.

Эксперимент проводили аналогично примеру 2. Дозу препарата Гамавит выбирали 0,5 мг/л. Время обработки оплодотворенной икры составляла 1 мин. Результаты представлены в таблице 3.

Пример 6. Эксперимент проводили аналогично примеру 2. Дозу препарата Гамавит выбирали 0,5 мг/л. Время обработки оплодотворенной икры составляла 3 мин. Результаты представлены в таблице 3.

Пример 7. Эксперимент проводили аналогично примеру 2. Дозу препарата Гамавит выбирали 0,5 мг/л. Время обработки составляла 5 мин. Результаты представлены в таблице 3.

 Таблица
 3.
 Результаты
 эксперимента
 по
 времени
 обработки

 оплодотворенной икры иммуностимулирующим препаратом Гамавит

5

10

15

20

25

30

Наименование	Единиц Опытная группа			па	Контро
показателя	a				ль
	измере ния	1	2	3	
Доза препарата Гамавит	мг/л	0,5	0,5	0,5	-
Время обработки	мин	1	3	5	-
Количество оплодотворенной икры	КГ	1	1	1	1
Средний вес икринки	МГ	26,7	26	27,5	26,8
Отход за период инкубации	%	10	7	15	18

Продолжительность инкубации	сут.	8	7	10	9
Средняя масса 3-х дневной личинки	МГ	17	21	15	15
Выход личинки, перешедшей на активное питание	%	60	72	60	54
Отход молоди за период выращивания до средней массы 10 г	%	9	3	9	10
Период выращивания	сут.	60	59	61	60

Из таблицы 3 следует, что оптимальное время обработки оплодотворенной икры препаратом Гамавит составляет 3 мин.

Из примеров 1-4 следует, что во всех опытных группах был отмечен высокий процент выживаемости икры по сравнению с контролем. Длительность сроков инкубации соответствовала нормативным показателям для данного вида. При этом в опытных группах выклев начался раньше на несколько дней, несмотря на то что температура воды была одинаковой как в экспериментальном, так и в контрольном аппаратах. Масса выклюнувшихся личинок в опытных группах была выше контрольной группы на 13,3-40%. Процент выживаемости личинок в опытных группах при переходе на активное питание превышал показатели контрольной группы, минимальный процент был зафиксирован в опытной группе 1 (около 66%), что на 12% выше контрольной группы. В опытных группах 2 и 3 показатели существенно не отличались: 72% и 73% соответственно, и превосходили показатели контрольной группы на 18% и 19% соответственно. В течение дальнейшего выращивания отход молоди в опытных группах был меньше, чем в контрольной, и не превышал более 5%.

Кроме того, в опытных группах, обработанных препаратом Гамавит, с дозировками 0,5 мг/л и 1,0 мг/л, кроме высокого процента выживаемости, отмечено получение личинок большей массы (на 40% выше контрольной группы), что позволяет получить молодь более крупной навески, которая будет более здоровой, жизнестойкой и после выпуска в естественные водоемы будет более адаптирована к негативным факторам окружающей среды.

При этом в опытных группах с дозировками Гамавита 0,5 мг/л и 1,0. мг/л исследованные рыбоводно-биологические показатели существенно не отличались, что позволяет в дальнейшем использовать более низкую дозировку препарата (0,5 мг/л) для достижения эффекта при его экономичном расходовании.

При проведении эксперимента (примеры 5-7) по времени обработки оплодотворенной икры (таблица 3) было выявлено, что в опытных группах 1 и 2 процент выживаемости икры выше по сравнению с группой 3 и контролем. При этом в опытных группах 1 и 2 выклев начался раньше на несколько дней, несмотря на то что температура воды была одинаковой как в экспериментальном, так и в контрольном аппаратах. Масса выклюнувшихся личинок в опытных группах 1 и 2 была выше контрольной группы и опытной группы 3 на 12-28%. Процент выживаемости личинок в опытных группах при переходе на активное питание превышал показатели контрольной группы, минимальный процент был зафиксирован в опытной группе 1 и 3 (около 60%), что на 10% выше контрольной группы. В опытных группах 1 и 3 показатели не отличались друг от друга и равнялись 60%. В течение дальнейшего выращивания отход молоди в опытных группах 1, 3 и контрольной существенно не отличались друг от друга, но был больше на 6-7%, чем в опытной группе №2.

При этом в опытной группе 2 со временем обработки 3 мин исследованные рыбоводно-биологические показатели существенно отличались от опытных групп со временем обработки 1 мин и 5 мин и контрольной, что свидетельствует о наиболее эффективном времени обработки, равном 3 мин.

Результаты биохимического анализа молоди ленского осетра, полученной предлагаемым способом, даны в таблице 4. Из таблицы 4 следует, что в экспериментальных группах с дозировками 0,5 и 1,0 мг/л молодь отличалась хорошим физиологическим состоянием, на что указывает высокое содержание протеина - 66,2% и 66,0%, которое выше на 1,9 и 1,7% показателя в контроле соответственно и на 1,7 и 1,5% по сравнению с показателями экспериментальной группы с дозировкой 0,2 мг/л соответственно. В свою очередь, показатели протеина между экспериментальными группами с дозировкой 0,5 мг/л и 1,0 мг/л не имеют сильных различий, из чего можно сделать вывод, что физиологическое состояние молоди этих двух групп существенно не различается. Экспериментальная группа с дозировкой 0,2 мг/л не имеет сильных различий между показателями протеина с контрольной группой. Однако она отличается от групп с дозировкой 0,5 и 1,0 мг/л более низкими показателями протеина, что подтверждает низкую эффективность данной дозировки.

Таблица 4. Биохимический состав молоди ленского осетра

Показатели	Опытная гр	Контрольная		
	0,2 мг/л	0,5 мг/л	1 мг/л	группа
Влага, %	75, 3 ±	76,0 <u>+</u>	75,8 <u>+</u>	75,0 <u>+</u> 0,4
	0,3*	0,5*	0,4	
Cyxoe	$24,7 \pm 0,5$	24, 0 <u>+</u>	24,2 <u>+</u>	$25,0 \pm 0,5$
вещество, %		0,5	0,6*	
Протеин, %	$64,5 \pm 0,7$	66,2 ±	66,0 <u>+</u>	$64,3\pm0,6$
		0,6	0,8	
Липиды, %	20,0±0,4**	21, 4 ±	$21,5 \pm$	19,9 ± 0,3*
		0,5	0,5	
Углеводы,	$6, 1 \pm 0,3$	5,8 <u>+</u>	$5,7 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,5**$
%		0,4*		
Зола, %	$9,4 \pm 0,9$	$6,6 \pm 0.8$	$6,8 \pm 0,5$	$9,2 \pm 0,8$

Примечание: различия достоверны при *P<0, 01, ** P< 0, 005

Та же зависимость наблюдается и в содержании липидов. В группах с дозировками Гамавита 0,5 и 1,0 мг/л количество липидов выше, чем в контрольной группе, соответственно на 1,5 и 1,6%.

Полученные результаты рыбоводно-биологического и биохимического исследований в данном эксперименте дают все основания утверждать, что использование Гамавита для обработки икры перед инкубацией позволяет улучшить показатели осетровых рыб на всех стадиях получения посадочного материала. Оптимальная дозировка по итогам эксперимента составляет 0,5 мг/л с экспозицией 3 мин.

Т.о. предлагаемое изобретение позволяет увеличить выклев личинок, повысить жизнеспособность мальков, интенсифицировать их рост и развитие и, следовательно, поднять производительность рыбоводческих хозяйств без изменения размеров производственных площадей.

Использованные источники

- 1. Патент РФ №2233083, МКИ А01К 61/00, 63/00.
- 2. Авт. свид. СССР №1243667, МКИ А01К 61/00 (прототип).

Формула изобретения

Способ получения личинок и мальков осетровых рыб, заключающийся в том, что икру осетровых рыб обрабатывают в водном растворе стимулирующего вещества, отличающийся тем, что в качестве стимулирующего вещества используют комплексный препарат Гамавит, при этом обработку проводят после промывки оплодотворенной икры при дозировках препарата 0,5-1,0 мг/л и времени выдержки в этом растворе 3 мин.

5

10

15

30