РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



2 596 838⁽¹³⁾ C2

Z

ထ

တ

 ∞ ယ

 ∞

(51) MIIK A01K 61/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2014153185/13, 25.12.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента: 25.12.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.12.2014

(43) Дата публикации заявки: 20.07.2016 Бюл. № 20

(45) Опубликовано: 10.09.2016 Бюл. № 25

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU2390992C1, 10.06.2010. SU554848A1, 25.04.1977. RU2425893C2, 10.08.2011.

Адрес для переписки:

199053, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 26, ФГБНУ "ГосНИОРХ"

(72) Автор(ы):

Легкодимова Зинаида Ивановна (RU), Масликов Виктор Петрович (RU), Зайцев Михаил Юрьевич (RU), Зайцев Владимир Юрьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "ГосНИОРХ" (ФГБНУ "ГосНИОРХ") (RU)

(54) СПОСОБ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА ЕВРОПЕЙСКОГО COMA (Silurus glanis L.)

(57) Реферат:

C

 ∞

က ∞ 9

S

Способ включает отбор половозрелых производителей, инъецирование их суспензией гипофиза рыб, отбор половых продуктов, осеменение икры, обесклеивание ее раствором молока при перемешивании пузырьками воздуха. После обесклеивания икру отмывают водой и подвергают обработке отваром коры и листьев ивы при перемешивании пузырьками воздуха. производят инкубацию икры, выдерживание И подращивание Изобретение обеспечивает повышение выхода жизнеспособных личинок. 1 з.п. ф-лы, 1 пр.

Стр.: 1

RUSSIAN FEDERATION



(19) **RII**(11) **2**

2 596 838⁽¹³⁾ **C2**

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

FEDERAL SERVICE FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2014153185/13, 25.12.2014

(24) Effective date for property rights: 25.12.2014

Priority:

(22) Date of filing: 25.12.2014

(43) Application published: **20.07.2016** Bull. № **20**

(45) Date of publication: 10.09.2016 Bull. № 25

Mail address:

199053, Sankt-Peterburg, nab. Makarova, 26, FGBNU "GosNIORKH"

(72) Inventor(s):

Legkodimova Zinaida Ivanovna (RU), Maslikov Viktor Petrovich (RU), Zajtsev Mikhail YUrevich (RU), Zajtsev Vladimir YUrevich (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe nauchnoe uchrezhdenie "GosNIORKH" (FGBNU "GosNIORKH") (RU)

(54) METHOD FOR ARTIFICIAL REPRODUCTION OF CATFISH (Silurus glanis L)

(57) Abstract:

FIELD: fishing and fish farming.

SUBSTANCE: method involves sampling of mature producers, injection of suspension hypophysis fish, selection of the sex products, insemination caviar, removal of mucilage with milk solution while stirring with air bubbles. After removal of mucilage caviar is washed with water and treated with bark and willow

leaves tea upon mixing with air bubbles. That is followed by incubation of caviar, maintenance and growth of larvae.

S

9

တ

 ∞

ယ

 ∞

EFFECT: invention provides high output of living larvae.

2 cl, 1 ex

C 5

596838

2

Изобретение относится к рыбоводству, в частности к биотехнологии искусственного получения потомства европейского сома (Silurus glanis L.), и может быть использовано на воспроизводственных комплексах и цехах рыборазводных предприятий.

Известен способ искусственного воспроизводства европейского сома (Silurus glanis L.), когда производителей усыпляют с помощью анестетика, а половые продукты у производителей получают, используя однократную инъекцию суспензии карпового гипофиза из расчета 3,5-4,0 мг/кг массы тела. Отбор половых продуктов осуществляется через 20 часов методом отцеживания. Молоки самцов сцеживают непосредственно на икру. Полученные половые продукты смешивают вручную.

При этом способе рыбовод может оценить индивидуальную плодовитость каждой самки с определением количества и качества икры, а также определить количество и качество молок у самцов. Полученную от каждой самки икру смешивают с молоками от одного или от нескольких самцов в зависимости от количества и качества молок. Оплодотворенную икру закладывают в инкубационные аппараты Вейса и ВНИИПРХа. После выклева предличинок рассаживают в садки из капронового сита с ячеей 0,1-0,2 мм, где их выдерживают 4-5 суток. С началом активного питания личинок пересаживают в бассейны или лотки на подращивание (В. Стеффенс. Индустриальные методы выращивания рыбы. - М.: Агропромиздат, 1985. - С. 213-216).

10

Особенностью воспроизводства сома (на стадии инкубации) является повышенная клейкость икры после осеменения.

Вышеописанный способ предусматривает закладку оплодотворенной икры в инкубационные аппараты без обесклеивания, приклеивая ее к стенкам аппаратов. В конце процесса инкубации при этом способе живая и мертвая икра, сползая со стенок аппаратов, концентрируется в конусах, что приводит к повышенным отходам икры. На погибших икринках развивается заболевание, вызываемое возбудителем сапролегниоза, который может поражать и живые икринки.

Известны способы воспроизводства и выращивания европейского сома без обесклеивания с использованием на стадии инкубации икры субстратов, на которые размещают икру, начинающую приобретать клейкость. Например, в Международной заявке (WO №9956534, A01K 61/00, 1999) описан способ воспроизводства и выращивания в водной среде европейского сома и устройство для осуществления этого способа. Способ включает все основные производственные процессы по получению личинок. Особенностью данного способа является поддержание постоянной температуры воды на всех классических стадиях выращивания, а также проведение инкубации приклеенной икры на съемной подложке специальной конструкции, сформированной двумя круговыми рамами, связанными между собой вертикальными стойками. Отмечается, что инкубация икры осуществляется при управляемом температурном режиме близком к 26°С.

Недостатком этого способа является отсутствие возможности ухода за инкубируемой приклеенной икрой, которая расположена на вертикальных скрепленных стойках.

Предложен способ искусственного воспроизводства европейского сома, при котором практически не используется специальное рыбоводное технологическое оборудование (патент RU №2390992, A01K 61/00, 2010). Получение половых продуктов от производителей осуществлялось обычным ранее известным способом гипофизарных инъекций (карповым гипофизом). Отцеженную икру осеменяли ранее заготовленными молоками или сцеживаемыми непосредственно на икру. Осемененную икру, начинающую приобретать клейкость, рассеивали строчкой на естественный (ветви ивы) или искусственный (капроновые нити, газ, ерши) субстрат, помещенный в пластиковый или

бетонный бассейн. Икра инкубировалась при естественной температуре воды и постоянной проточности. После выклева предличинок субстрат удалялся. Процесс выдерживания и подращивания личинок осуществлялся в той же емкости с последующим разреживанием их плотности посадки по мере роста.

Этот метод приемлем в условиях упрощенного процесса производства. Недостатком его является то, что он не позволяет осуществлять отбор мертвых икринок, которые в первую очередь поражаются грибковым заболеванием сапролегниозом, гифы грибов постепенно захватывают живую икру и эмбрионов.

5

При этом методе невозможно оценить индивидуальные качества потомства отдельных производителей и осуществлять селекционно-племенную работу с этим видом.

Существуют способы инкубации, предполагающие обесклеивание икры различных видов рыб, в том числе европейского сома, перед инкубацией, для чего используют ферменты, такие как гиалуронидаза, трипсин, проназа и т.д.

Известен способ искусственного воспроизводства европейского сома, предполагающий обесклеивание оплодотворенной икры алкалазой, описанный в патенте RU №2390992, A01K 61/00, 2010.

В соответствии с этим способом через пять минут после оплодотворения икру обесклеивают в течение двух минут специальным обесклеивающим препаратом алкалазой, созданной на основе микроорганизмов - продуцентов протеаз. После обесклеивания оплодотворенную икру промывают свежей водой, и закладывают в аппараты Вейса для дальнейшей инкубации. При этом способе установлен высокий процент оплодотворения икры на уровне 95% и выше. Инкубация икры в аппаратах при температуре воды 21-23°C длится от 2,5 до 3 суток. Рабочие могут постоянно удалять погибшую в аппаратах икру вплоть до выклева. Содержание кислорода в воде аппаратов должно быть не ниже 6 мг/л при расходе воды в аппаратах из расчета 0,05-0,08 л/с. На завершающей стадии инкубирования икры приток воды в аппаратах сокращают до минимума с целью накапливания фермента вылупления и инициации массового выклева предличинок. Затем предличинок размещают в эмалированные тазы, где происходит дальнейшая активация их выклева. Выклюнувшихся предличинок отмывают от оболочек, а затем размещают на выдерживание в сетчатые садки из капронового сита на 3-5 суток, после чего личинок пересаживают на подращивание в лотки или бассейны.

Недостатком этого способа является то, что на завершающих этапах инкубации икры необходимо проведение множества технологических манипуляций, осуществляемых вручную, в частности связанных с очисткой предличинок от оболочек икры, удалением оболочек. Кроме того, эти манипуляции могут приводить к травмированию предличинок

В статье «Основы заводского воспроизводства сома обыкновенного Silurus glanis (L)», (Материалы конференции «Современное состояние рыбоводства на Урале и перспективы его развития», Екатеринбург, 2003 г.), описан способ заводского воспроизводства сома обыкновенного, заключающийся в отборе производителей, стимулировании созревания половых продуктов способом гипофизарных инъекций, отборе половых продуктов, осеменении, обесклеивании раствором обезжиренного коровьего молока и инкубировании оплодотворенной икры, выдерживании и подращивании вылупившихся эмбрионов до перехода их на смешанное питание и подращивание молоди до жизнестойких стадий. Для стимулирования созревания половых продуктов использовались гипофизы карповых видов рыб или сома. Этот способ, как наиболее близкий по технической сущности, принят за прототип, т.к. включает прием обесклеивания икры.

В соответствии с этим способом набухающую после осеменения и приобретающую клейкость икру обесклеивали. В качестве обесклеивающего раствора использовали обезжиренное коровье молоко, разбавленное прудовой водой в соотношении 1:9. В осемененную икру добавляли обесклеивающую эмульсию из расчета 4-5 л на 1 л икры, затем помещали ее в аппараты Вейса для отмешивания пузырьками воздуха.

При инкубации икры, отмытой от клейкости раствором коровьего молока и приклеенной к стенкам аппаратов, вылупившиеся эмбрионы концентрировались в конусах, находя убежище в остатках мертвой икры и оболочках, что затрудняло их отделение. Разложение этих остатков приводило к ухудшению газового режима и повышенному отходу эмбрионов (до 25%), выход жизнеспособных эмбрионов не превышал 75% от оплодотворенной икры. Икру на начальном этапе выклева эмбриона переносили в лотки. Вылупившиеся эмбрионы концентрировались в лотках и выдерживались до перехода на активное питание при постоянном водообмене, а отходы - оболочки, мертвая икра, пораженная сапролегнией, - удалялись вручную.

Таким образом, на завершающих этапах инкубации икры необходимо проведение трудоемких технологических операций, связанных с удалением мертвой икры и оболочек из конусов, с очисткой предличинок от оболочек икры, удалением оболочек. При этом на начальном этапе выклева эмбрионов при концентрации их в конусах аппаратов вместе с оболочками и мертвой икрой, пораженной сапролегнией, отмечалась их частичная гибель.

Недостатками этого способа являются низкий выход жизнеспособных личинок и высокая трудоемкость процесса.

Задачей настоящего изобретения является повышение эффективности искусственного (заводского) воспроизводства сома европейского.

В соответствии с предложенным решением в способе искусственного воспроизводства европейского сома (Silurus glanis L.), включающем отбор половозрелых производителей, инъецирование их суспензией гипофиза рыб, отбор половых продуктов, осеменение икры, обесклеивание ее раствором молока при перемешивании пузырьками воздуха, инкубацию икры, выдерживание и подращивание личинок, после обесклеивания осемененной икры раствором молока и отмывания от этого раствора водой ее подвергают обработке отваром коры и листьев ивы при перемешивании пузырьками воздуха.

Способ реализуется следующим образом.

25

Отобранных производителей весом 6-15 кг выдерживают изолированно в специальных сетчатых садках-«люльках» в проточных пластиковых лотках без применения анестезирующих средств.

Для стимулирования созревания половых продуктов производится двукратное инъецирование самок с интервалом в 12 часов между I и II инъекциями суспензией гипофизов рыб. Самцам вводилась суспензия гипофизов однократно. При этом наблюдается дружная овуляция икры у всех самок, что позволяет получить икру от всех самок в сжатые сроки (в течение 1-2 часов).

Обычно используют суспензию гипофизов карпа, но были опробованы и гипофизы других рыб: леща, сома, сазана. Во всех случаях отмечались положительные результаты. Отбор половых продуктов у самок осуществляется сцеживанием, у самцов - вакуумным приспособлением.

После осеменения набухшую и ставшую клейкой икру обесклеивают. В качестве обесклеивающего раствора используют обезжиренное молоко, разбавленное водой в соотношении 1:9. Процесс осуществляют при перемешивании пузырьками воздуха в

течение 45-50 мин при соотношении икры и раствора молока 1:6. После отмывания икры от обесклеивающего раствора водой ее подвергают обработке отваром коры и листьев ивы при перемешивании пузырьками воздуха, затем инкубируют во взвешенном состоянии.

Отвар готовят следующим образом: нарезанную кору ивы и мелкие ветви с листьями помещают в емкость с водой, доводят до кипения и настаивают до полного охлаждения. Соотношение растительного сырья и воды составляет 0,10-0,12 кг на 1 литр.

5

10

20

Обесклеивание, обработку отваром коры и листьев ивы и инкубацию осуществляют в аппаратах Вейса, помещая в них 1 литр икры в каждый.

Было установлено, что при обработке икры только раствором молока в течение указанного времени икра обесклеивается, однако оболочки икры истончаются, происходит их преждевременное разрушение, что приводит к преждевременному вылуплению нежизнеспособных эмбрионов и, следовательно, к уменьшению выхода жизнеспособных.

Было найдено, что дополнительная обработка икры отваром коры и листьев ивы при перемешивании пузырьками воздуха после обесклеивания раствором молока и отмывания ее водой позволяет получить лучшие результаты. Такая обработка позволяет «закрепить» оболочки икры и тем самым исключить преждевременный выклев эмбрионов в процессе инкубации.

Инкубацию обесклеенной икры с закрепленными оболочками осуществляют в тех же аппаратах при постоянной подаче воды,

В процессе инкубации икры после двустадийной обработки ее (описанной выше) икринки не склеиваются в комки, а эмбрионы не скапливаются в конусах, побочные продукты инкубации - оболочки, мертвые икринки, пораженные сапролегнией, - всплывают над живой икрой и легко удаляются сифоном.

Очищенную икру переносят в сетчатые вкладыши аппарата лоткового типа «Осетр». Вылупившиеся эмбрионы с токами воды поступают в лоток-приемник по желобу.

Технический результат заявленного способа заключается в повышении выхода жизнеспособных личинок до 85-90% и снижении трудоемкости процесса воспроизводства европейского сома. Обесклеивание, отмывка от раствора молока, «закрепление», инкубация икры и все последующие стадии осуществляются практически без применения ручного труда.

Этот технический результат достигается благодаря новому существенному признаку - обработке осемененной икры после обесклеивания ее раствором молока, отваром коры и листьев ивы - в совокупности с известными существенными признаками.

Таким образом, поставленная задача - повышение эффективности способа искусственного (заводского) воспроизводства европейского сома - выполнена.

В процессе отработки способа было найдено оптимальное количество отвара коры и листьев ивы на аппарат Вейса (на 1 литр икры), а также найдены оптимальные временные режимы обработки икры этим отваром.

Оптимальным количеством отвара ивы, добавляемого в аппарат (т.е. к 1 литру икры), является 0,5-0,6 литра. Соотношение икры и отвара 1:0,5-0,6. Оптимальное время обработки икры этим отваром составляет 20-30 мин.

При больших количествах отвара ивы (например, 07 литра на 1 литр икры) или большем времени обработки отваром ивы (более 30-35 мин) наблюдается растянутый выклев личинок (до 2-3 суток), в результате чего они теряют силу и умирают, т.е выход жизнеспособных эмбрионов уменьшается или эмбрионы не вылупляются вообще, погибая в оболочках.

При меньших количествах отвара или меньшем времени обработки (менее 20 мин) отваром ивы отход эмбрионов увеличивается, выход жизнеспособных эмбрионов уменьшается. Трудоемкость процесса повышается.

Пример

5

30

10 самок и 5 самцов сома весом 5-6 кг выдерживали изолировано в специальных сетчатых садках-«люльках» в отдельных проточных пластиковых лотках.

Для стимулирования созревания половых продуктов использовали двукратное инъецирование самок с интервалом в 12 часов между I и II инъекциями суспензией гипофизов карпа. Самцам вводили суспензию гипофизов однократно. Созревание самок после второй инъекции при температуре 24-25°С отмечалось через 12 часов. Овуляция икры у всех самок завершилась в течение 1-2 часов. Отбор половых продуктов у самок осуществляли сцеживанием, у самцов - подключичным детским резиновым катетером, соединенным со шприцом.

Полученная отцеживанием икра осеменялась молоками в течение 1-2 минут. Затем в таз с осемененной икрой добавляли раствор обезжиренного коровьего молока, разведенного водой 1:9.

Соотношение икры и молока составляло 1:5, т.е. к 1 литру икры добавляли 5 литров раствора молока.

Затем для обесклеивания осемененную икру в растворе обезжиренного молока помещали в аппараты Вейса (емкостью 8 литров), в каждый из которых был предварительно внесен 1 литр такого же раствора молока во избежание прилипания икры к стенкам аппарата. Процесс осуществляли при перемешивании пузырьками воздуха, нагнетаемого компрессором (соотношение икры и раствора молока 1:6).

Конструктивной особенностью стойки с аппаратами Вейса является то, что к ним снизу подведены две трубы с вентилями, снабженные переключателем, соединенным с воздухораспределительной и водораспределительной трубами. По одной трубе подавалась вода из резервуара оптимальной температуры - 22-24°C.

После заполнения аппаратов раствором молока и помещением в них осемененной икры аппараты подключались через шланги к воздухораспределительной трубе.

Во избежание травмирования и выноса икры резкими толчками поток воздуха заранее регулировался вентилями таким образом, чтобы икра интенсивно перемешивалась, но не разбрызгивалась. Продолжительность процесса составляла 45 минут. Одновременно можно обесклеивать икру в 10-15 аппаратах Вейса.

По завершении процесса обесклеивания раствором молока подачу воздуха прекращали и аппараты переводили на водный режим работы.

К промытой от молочного раствора икре добавляли отвар коры и листьев ивы плакучей в количестве 0,6 л на аппарат (на 1 литр икры). Икра медленно перемешивалась пузырьками воздуха от воздухораспределительной сети в течение 25 мин.

Для приготовления растительного отвара нарезанную кору ивы и мелкие ветви с листьями весом 0,5 кг помещали в 5-литровую емкость с водой. Доводили до кипения и настаивали до полного охлаждения в течение 5 часов.

После «закрепления» оболочек осуществляли инкубацию икры. Подача воздуха прекращалась, и в аппараты через вентили постепенно подавалась вода, поток которой регулировался таким образом, чтобы поддерживать икру во взвешенном состоянии.

Температура воды поддерживалась на оптимальном уровне: в пределах 22-24°C. Время инкубации составляет 60 часов.

На начальной стадии вылупления эмбрионов - появление из икринок «хвостиков» - очищенную от побочных продуктов инкубации икру переносили в сетчатые вкладыши

RU 2596838C2

аппарата «Осетр», и эмбрионы свободно выходили с токами воды в лоток-приемник, оборудованный фильтром из мельничного газа №16-18. Все оболочки оставались в сетчатом вкладыше аппарата, а чистые вылупившиеся эмбрионы из лотка-приемника распределяли по проточным лоткам на выдерживание до перехода на смешанное питание. Для их укрытия от света в лотки помещали пластиковые трубки и пластинки на подставках. При переходе на смешанное питание на 4-5 день личинки начали выходить из укрытий, и их переводили на экзогенное питание. Перешедшие на экзогенное питание личинки могут использоваться для зарыбления прудов или подращиваться в бассейнах дальше на искусственных кормах. Можно использовать специальные корма для сома или осетровых, регулируя плотность посадки молоди по мере ее роста.

Инкубация икры в аппаратах Вейса в обесклеенном состоянии позволяет четко контролировать процесс инкубации: своевременно определять индивидуальное качество икры отдельных самок по величине процента нормально развивающихся икринок, отбирать мертвую икру, проводить профилактическую ее обработку, планировать ожидаемое количество полученных личинок.

Формула изобретения

- 1. Способ искусственного воспроизводства европейского сома (Silurus glanis L.), включающий отбор половозрелых производителей, инъецирование их суспензией гипофиза рыб, отбор половых продуктов, осеменение икры, обесклеивание ее раствором молока при перемешивании пузырьками воздуха, инкубацию икры, выдерживание и подращивание личинок, отличающийся тем, что после обесклеивания осемененной икры раствором молока и отмывания от этого раствора водой ее подвергают обработке отваром коры и листьев ивы при перемешивании пузырьками воздуха.
 - 2. Способ искусственного воспроизводства европейского сома (Silurus glanis L.) по п. 1, отличающийся тем, что обработку отваром коры и листьев ивы осуществляют в течение 20-30 мин при соотношении икры и отвара коры и листьев ивы 1:0,5-0,6.

30

35

40

45